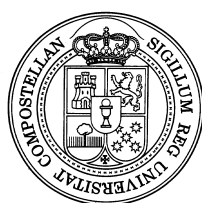


**UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología  
Área de Nutrición y Bromatología**



**“DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA  
DETERMINACIÓN DE GASES INVERNADERO. APLICACIÓN AL ESTUDIO  
DE LA INFLUENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO GLOBAL SOBRE LA  
MINERALIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO.”**

**MARÍA REY GARROTE**

Santiago de Compostela, Noviembre del 2000

**PILAR BERMEJO BARRERA, DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**

INFORMA: Que Dña. María Rey Garrote presenta el trabajo titulado “DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE GASES INVERNADERO. APLICACIÓN AL ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO GLOBAL SOBRE LA MINERALIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO” realizada en el laboratorio de Bromatología de la Universidad de Santiago de Compostela, bajo la dirección de los profesores Dr. Perfecto Paseiro Losada y Dr. Jesús Simal Lozano (Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología) y Dr. Fernando Gil Sotres y Dra. M. Carmen Leirós de la Peña (Departamento de Edafología y Química Agrícola).

Fdo. Dra. Dña. Pilar Bermejo Barrera

Santiago de Compostela, Noviembre del 2000.



El Dr. D. **PERFECTO PASEIRO LOSADA**, Profesor Titular de Nutrición y Bromatología, el Dr. D. **JESÚS SIMAL LOZANO**, Catedrático de Análisis Químico Aplicado, Bromatología y Toxicología, la Dra. Dña. **M. CARMEN LEIRÓS DE LA PEÑA**, Profesora Titular de Edafología y Química del Agrícola, y el Dr. **D. FERNANDO GIL SOTRES**, Catedrático de Edafología y Química del Agrícola:

**AUTORIZAN** a Dña. María Rey Garrote a presentar la Tesis titulada “DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE GASES INVERNADERO. APLICACIÓN AL ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO GLOBAL SOBRE LA MINERALIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO” para optar al Grado de Doctora, la cual ha sido realizada bajo nuestra dirección en el laboratorio de Bromatología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela.

Y para que conste se expide la presente en Santiago de Compostela, en Noviembre del año 2000.

Fdo. Dr. D. Perfecto Paseiro Losada

Fdo. Dr. D. Jesús Simal Lozano

Fdo. Dra. Dña. M. Carmen Leirós de la Peña

Fdo. Dr. D. Fernando Gil Sotres

*Al Abuelo Victor y a la Abuela Filo*



## *Agradecimientos*

Quisiera expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra forma me han ayudado durante la realización de este trabajo.

A mis directores: al Dr. Perfecto Paseiro por su hábiles explicaciones de cromatografía y por haberme dado la posibilidad de realizar este trabajo, al Dr. Jesús Simal Lozano, por tratar de enseñarme sus conocimientos informáticos y por transmitirme ejemplo con su constante dedicación, al Dr. Fernando Gil por su interés, preocupación y precisión, y a la Dra. M. Carmen Leirós por su cercanía, su comprensión y su paciencia durante todas las horas que me ha dedicado.

A la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, por la concesión del proyecto: "Influencia del cambio climático global sobre los ciclos del Carbono, Nitrógeno y Azufre del suelo, y su repercusión en la emisión de Gases Invernadero", perteneciente al Programa Nacional de I+D. A la Consellería de Educación e Ordenación Universitaria de la Xunta de Galicia, la concesión de las becas de Tercer Ciclo y Predoctoral.

A las personas que han hecho posible la realización de los muestreos periódicos que forman parte indispensable de este trabajo: D. Emilio Rodríguez de Castro, Dña. Socorro Seoane, D. Antonio Hortas y los responsables de la Escola de Capacitación Agrícola de Pontearreas.

A mis compañeros de proyecto, por todos esos viajes y horas que hemos pasado juntos: a Francisco García por su disponibilidad, a Isabel Martínez por su eficiencia y a Elena Guntiñas por sus buenos consejos, siempre acertados.

A los profesores del área de Nutrición y Bromatología, porque han contribuido en gran parte a mi formación científica. Especialmente a la Dra. M. Asunción Lage, porque siempre me ha demostrado que podía contar con ella.

A mis compañeros de departamento por el buen ambiente de trabajo. En especial a Dolores Cortizas porque juntas hemos vivido nuestras primeras experiencias científicas y a Carlos de la Cruz, Sarah Pastorelli y Raquel Sendón por su disposición y colaboración en todo lo que les ha sido posible. También a los integrantes del departamento de Edafología, por haberme llegado a considerar uno más, especialmente a Manuel por su constante amabilidad.

A la Dra. M. Concepción Pérez por aclararme más de una duda y demostrarme siempre su amistad. Al Dr. Jesús Simal Gándara por brindarme su ayuda, incluso en días no laborables. A la Dra. Carmen Trasar, por intentar entenderme y animarme en los momentos malos.

A Antonio Somoza por haberme soportado cuando estaba insoportable, por su generosidad y colaboración siempre práctica y eficaz.

A mi familia, mis tíos Puri y Antonio por haberme seguido durante estos años, a mi tío Alejandro y mi primo, también Alejandro, por haberme facilitado parte del soporte informático. A mi hermano, porque él nunca ha dejado de confiar en mí. Y especialmente a mis padres por la educación que me han ofrecido, y por su constante apoyo, no sólo durante la realización de este trabajo sino durante toda mi vida.

Por último a todos aquellos que me han comunicado sus ánimos y su cariño durante todo este tiempo. Es imposible nombraros a todos sin olvidarme de alguno, pero vuestra colaboración ha sido también muy importante.

# **Índice general.-**

<b>Agradecimientos.</b>	v
<b>Índice general.</b>	vi
<b>Índice de figuras.</b>	x
<b>Índice de gráficas.</b>	xii
<b>Índice de tablas.</b>	xvii
<b>Índice de abreviaturas.</b>	xix

<b>I.- INTRODUCCIÓN.</b>	<b>1</b>
<b>I.1- El planeta se calienta.</b>	<b>2</b>
<b>I.2- El clima.</b>	<b>4</b>
<b>I.3.- La atmósfera.</b>	<b>5</b>
<b>I.4.- El efecto invernadero.</b>	<b>7</b>
<b>I.5.- Los gases invernadero.</b>	<b>9</b>
I.5.1.- El vapor de agua.	10
I.5.2.- El dióxido de carbono.	11
I.5.3.- El metano.	13
I.5.4.- El óxido nítrico.	16
I.5.5.- Los clorofluorocarbonos.	19
I.5.6.- El ozono.	20
<b>I.6.- Otros contaminantes de la atmósfera.</b>	<b>20</b>
<b>I.7.- Repercusiones del cambio climático.</b>	<b>23</b>
I.7.1.- Incremento del nivel del mar.	23
I.7.2.- Ecosistemas marinos y costeros.	24
I.7.3.- Modificaciones en el ciclo hidrológico.	24
I.7.4.- Modificaciones en los ecosistemas terrestres.	24
I.7.4.1.- Vegetación.	24
I.7.4.2.- Fauna.	25
I.7.4.3.- Suelos.	25
I.7.5.- Repercusiones en la salud humana.	26
I.7.6.- Repercusiones sociales y económicas.	26
<b>I.8.- Actitudes internacionales ante el futuro.</b>	<b>27</b>

<b>II.- OBJETIVOS.</b>	<b>29</b>
------------------------	-----------

<b>III.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.</b>	<b>31</b>
<b>III.1.- Estudios no relacionados con procesos del suelo.</b>	<b>33</b>
III.1.1.- Determinación mediante GC/MS.	33
III.1.2.- Determinación mediante GC/TCD.	35
III.1.3.- Determinación mediante GC/FID.	36
III.1.4.- Determinación mediante GC/TCD/FID.	37
III.1.5.- Determinación mediante GC/PID.	38
III.1.6.- Determinación mediante GC/FPD.	39
III.1.7.- Determinación mediante GC/ECD.	40
III.1.8.- Determinación mediante GC y otros detectores.	41

III.1.9.- Determinación mediante cromatografía iónica.	42
III.1.10.- Determinación con espectrofotometría UV/VIS:	43
III.1.11.- Determinación con espectrofotometría IR.	43
<b>III.2.- Estudios relacionados con procesos del suelo.</b>	<b>44</b>
III.2.1.- Acerca de la recogida de muestras de gases.	44
III.2.2.- Acerca del transporte de gases.	47
III.2.3.- Determinaciones del CO <sub>2</sub> desprendido por el suelo.	48
III.2.4.- Determinaciones del N <sub>2</sub> O desprendido por el suelo.	50
III.2.5.- Determinaciones del CH <sub>4</sub> desprendido por el suelo.	50
 <b>IV.- OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.</b>	 <b>52</b>
<b>IV.1.- Fundamento.</b>	<b>53</b>
<b>IV.2.- Reactivos utilizados.</b>	<b>54</b>
IV.2.1.- Patrones químicos.	54
IV.2.2.- Otros.	55
<b>IV.3.- Material e instrumentación.</b>	<b>56</b>
IV.3.1.- Aparatos.	56
IV.3.2.- Columnas.	56
IV.3.3.- Herramientas informáticas.	57
IV.3.4.- Otros.	57
<b>IV.4.- Condiciones cromatográficas.</b>	<b>58</b>
<b>IV.5.- Procedimiento.</b>	<b>59</b>
IV.5.a.- Manejo y transporte de gases.	59
IV.5.b.- Calibración.	60
IV.5.c.- Límite de detección.	62
IV.5.d.- Precisión.	62
<b>IV.6.- Resultados.</b>	<b>63</b>
IV.6.a.- Manejo y transporte de gases.	63
IV.6.b.- Calibración.	65
IV.6.c.- Límite de detección	66
IV.6.d.- Precisión.	67
<b>IV.7.- Discusión.</b>	<b>68</b>
IV.7.a.- Elección de la fase estacionaria.	68
IV.7.b.- Elección del detector.	69
IV.7.c.- Elección de las condiciones del detector de masas.	72
IV.7.d.- Elección del programa de temperaturas.	75
IV.7.e.- Elección de la temperatura del bloque de inyección.	76
IV.7.f.- Elección del "split".	77
IV.7.g.- Elección del volumen de inyección.	78
IV.7.h.- Análisis del SH <sub>2</sub> .	78
IV.7.i.- Análisis del SO <sub>2</sub> .	79
IV.7.j.- Manejo y transporte de gases.	81
IV.7.k.- Calibración.	81
IV.7.l.- Precisión y límites de detección.	82
 <b>V.- EXPERIENCIAS DE LABORATORIO.</b>	 <b>84</b>
<b>V.1.- Objetivo.</b>	<b>85</b>
<b>V.2.- Reactivos utilizados.</b>	<b>85</b>
<b>V.3.- Material e instrumentación.</b>	<b>85</b>
<b>V.4.- Suelos objeto de estudio.</b>	<b>86</b>

<b>V.5.- Diseño experimental.</b>	88
<b>V.6.- Métodos analíticos.</b>	88
<b>V.7.- Procedimiento.</b>	89
V.7.1.- Montaje de una incubación.	89
V.7.2.- Medidas periódicas de los gases.	92
<b>V.8.- Identificación, confirmación y cuantificación.</b>	92
V.8.1.-Análisis cromatográficos.	92
V.8.2.- Valoración volumétrica del CO <sub>2</sub> .	93
<b>V.9.- Cálculos.</b>	93
V.9.1.-Análisis cromatográfico.	93
V.9.2.- Valoración volumétrica del CO <sub>2</sub> .	94
<b>V.10.- Resultados.</b>	94
V.10.1.- Diseño de incubación. Forcarei 10 y 25°C.	95
V.10.2.- Comparación de los resultados de emisión de CO <sub>2</sub> obtenidos por los dos métodos utilizados: gas-cromatográfico y volumétrico.	105
V.10.3.- Cinéticas de desprendimiento de gases con el diseño de incubación definitivo.	108
V.10.4.- Medidas acumuladas.	146
V.10.5.- Modelos de emisión de CO <sub>2</sub> y N <sub>2</sub> O.	160
V.10.5.1.- Tres variables independientes: tiempo, temperatura y humedad.	160
V.10.5.2.- Dos variables independientes: temperatura y humedad.	167
<b>V.11.- Discusión.</b>	173
V.11.1.- Diseño de incubación. Forcarei 10 y 25°C.	173
V.11.2.- Comparación de los resultados de emisión de CO <sub>2</sub> obtenidos por los dos métodos utilizados: gas-cromatográfico y volumétrico.	175
V.11.3.- Cinéticas de desprendimiento.	177
V.11.4.- Medidas acumuladas.	177
V.11.5.- Modelos de emisión de gases.	178
V.11.5.1.- Tres variables independientes: tiempo, temperatura y humedad.	178
V.11.5.2.- Dos variables independientes: temperatura y humedad.	179
 <b>VI.- EXPERIENCIAS DE CAMPO.</b>	 <b>181</b>
<b>VI.1.- Objetivo.</b>	182
<b>VI.2.- Reactivos utilizados.</b>	182
<b>VI.3.- Material e instrumentación.</b>	182
<b>VI.4.- Procedimiento.-</b>	183
<b>VI.5.- Identificación, confirmación y cuantificación.</b>	184
<b>VI.6.- Estudio de la emisión de gases tras haber añadido al suelo purín procedente de ganado vacuno.</b>	186
VI.6.1.- Objetivo.	186
VI.6.2.- Localización.	186
VI.6.3.- Reactivos y material.	186
VI.6.4.- Diseño de la experiencia.	187
VI.6.5.- Cálculos.	187
VI.6.6.- Resultados.	189
<b>VI.7.- Estudio de las cinéticas de flujo de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O desprendidos desde un suelo a lo largo de un día.</b>	193
VI.7.1.- Objetivo.	193
VI.7.2.- Localización.	193
VI.7.3.- Diseño de la experiencia.	193
VI.7.4.- Cálculos.	194

VI.7.5.- Resultados.	194
VI.7.5.a.- Medidas acumuladas.	194
VI.7.5.b.- Medidas en intervalos.	196
VI.7.5.c.- Comparación entre suelos con/sin fertilizar.	197
<b>VI.8.- Estudio “in situ” de la posible influencia del cambio climático global sobre la emisión de gases invernadero.</b>	198
VI.8.1.- Objetivo.	198
VI.8.2.- Localización.	198
VI.8.3.- Diseño de la experiencia.	200
VI.8.4.- Cálculos.	202
VI.8.5.- Resultados y discusión.	202
VI.8.5.1.- Estudio estadístico del clima.	202
VI.8.5.2.- Resultados de emisión de gases en cada uno de los puntos de muestreo.	204
VI.8.5.3.- Comparación del comportamiento del suelo de Sobrado, en su lugar de origen y trasladado.	207
VI.8.5.3.a.- Resultados para las velocidades de emisión del CO <sub>2</sub>	209
VI.8.5.3.b.- Resultados para las velocidades de emisión del N <sub>2</sub> O.	213
VI.8.5.4.- Comparación del comportamiento del suelo de Navia, en su lugar de origen y trasladado.	215
VI.8.5.4.a.- Resultados para las velocidades de emisión del CO <sub>2</sub>	216
VI.8.5.4.b.- Resultados para las velocidades de emisión del N <sub>2</sub> O.	221
<b>VII.- DISCUSIÓN GENERAL.</b>	223
<b>VIII.- CONCLUSIONES.</b>	227
<b>IX.- BIBLIOGRAFÍA.</b>	231



## **Índice de figuras.-**

### **I.- FIGURAS de la INTRODUCCIÓN:**

- **Figura I1:** Distribución de las temperaturas en la atmósfera terrestre.
- **Figura I2:** Esquema simplificado del efecto invernadero.
- **Figura I3:** Emisiones de los diversos gases invernadero que contribuirán al forzamiento climático.
- **Figura I4:** Medidas de la concentración de  $\text{CO}_2$  en el aire de Mauna Loa (Hawai), variaciones debidas al oscilamiento estacional e incremento en la concentración en el período medido.
- **Figura I5:** Aumento global del  $\text{CO}_2$ . Medidas realizadas desde el Observatorio de Mauna Loa, a las que se han añadido las determinaciones en los hielos polares de la estación de Siple.
- **Figura I6:** Intercambio de  $\text{CO}_2$  entre la atmósfera y la porción de biosfera terrestre.
- **Figura I7:** El suelo como posible fuente y sumidero de  $\text{N}_2\text{O}$ . Interacción entre la atmósfera y los procesos de nitrificación y desnitrificación del suelo.
- **Figura I8:** Incrementos del  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  y CFC11 desde 1750. Datos anteriores a los años 50 obtenidos a partir del análisis de las burbujas de gas atrapadas en el hielo de la Antártida.
- **Figura I9:** Principales contaminantes emitidos a la atmósfera por la industria americana. Fuente: "Global Environmental Change" Himore, 1996.

### **III.- FIGURAS de ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS:**

- **Figura A1:** Campana de flujo dinámico. Aneja y col., 1995.
- **Figura A2:** Corte seccional de una campana sellada y otra ventilada. Conen y Smith, 1998.
- **Figura A3:** Campana estática con sistema de ventilación. Hutchinson y Mosier, 1981.
- **Figura A4:** Sistema de recogida de muestras. Magnusson, 1989.

### **VI.- FIGURAS de la OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:**

- **Figura M1:** Sistema HSGC-MS.
- **Figura M2:** Procedimiento para la preparación de los patrones de calibración.
- **Figura M3:** Cromatogramas de la mezcla de patrones de la bala nº1, obtenidos en modo SIR. Se muestran el correspondiente al TIC, y los de las masas 15, 16, 30 y 44.
- **Figura M4:** Columnas comerciales.
- **Figura M5:** Detectores PID y FID.
- **Figura M6:** Fuente de impacto electrónico del detector de MS.
- **Figura M7:** Mapa obtenido a partir del procesamiento, con el Masslynx, de un cromatograma de una mezcla de patrones en "full scan".
- **Figuras M8-14:** Espectros de masas de la librería Wiley, por orden de aparición:  $\text{CH}_4$ ,  $\text{SH}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{SO}_2$  y  $\text{NO}_2$ .
- **Figura M15:** Horno del GC-MS con el programa el temperatura definitivo.
- **Figura M16:** Sistema de inyección "split/splitless".
- **Figura M17:** Análisis de la bala-patrón nº2 ( $\text{SH}_2$ ) en modo SIR.



## **V.- FIGURAS de las EXPERIENCIAS DE LABORATORIO:**

- **Figura L1:** Localización geográfica de los municipios de Negreira y Forcarei, donde están situadas las áreas de muestreo en las que se ha recogido el suelo para realizar las experiencias de laboratorio.
- **Figura L2:** Adición de agua y control del nivel de humedad.
- **Figura L3:** Sistema de incubación: un suelo/un nivel de humedad/una temperatura.
- **Figuras L4, L5 y L6:** Sistema de incubación de suelo correspondiente a una semana.
- **Figuras L7:** Vial con suelo que va a ser sellado con el encapsulador.
- **Figura L8:** Resultados del test T de comparación de métodos analíticos, suelo de prado.
- **Figura L9:** Resultados del test T de comparación de métodos analíticos, suelo de patata.
- **Figura L10:** Resultados del test T de comparación de métodos analíticos, suelo de Forcarei.
- **Figura L11:** Resultados del test T para la comparación de métodos en los tres suelos a la vez (SPSS). Datos y gráficas de la regresión lineal de los datos (Statística).
- **Figura L12:** Sistemas anticondensación.
- **Figura L13:** Mapa obtenido a partir del procesamiento, con el Masslynx, de un cromatograma de gases emitidos por el suelo de prado (D=2 H=93 T=25).

## **VI.- FIGURAS de las EXPERIENCIAS DE CAMPO:**

- **Figura C1:** Recogida de los gases desde las cámaras instaladas en el suelo.
- **Figura C2:** Transvase de los gases recogidos en las cámaras a viales.
- **Figura C3:** Medición del Eh y temperatura del suelo.
- **Figura C4:** Mapa obtenido a partir del procesamiento, con el Masslynx, de un cromatograma de gases recogidos desde un suelo con purín.
- **Figura C5:** Galicia en el mundo.
- **Figura C6:** Localización geográfica de Sobrado, Rao y Ponteareas. Lugares elegidos como representativos de los diferentes climas de Galicia.
- **Figura C7:** Diseño del estudio "in situ" de la influencia del cambio climático sobre la emisión de gases.
- **Figura C8:** MUESTREO en NAVIA. Monolitos de suelo de Navia, antes y después de colocar las cámaras para la toma de muestras de gases.
- **Figura C9:** MUESTREO en SOBRADO. Monolitos de suelo de Navia y Sobrado, antes y después de colocar las cámaras para la toma de muestras de gases.
- **Figura C10:** MUESTREO en PONTEAREAS. Monolitos de suelo de Navia, Sobrado y Ponteareas durante la toma de muestras de gases.

## **Índice de gráficas.-**

### **VI.- GRÁFICAS de la OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:**

- **Gráfica M1:** Comparación de métodos de transporte de gases.
- **Gráfica M2:** Resultados del análisis de la varianza para el  $N_2O$  en la comparación de métodos de transporte de los gases.
- **Gráfica M3:** Resultados del análisis de la varianza para el  $CH_4$  en la comparación de métodos de transporte de los gases.
- **Gráfica M4:** Resultados del análisis de la varianza para el  $CO_2$  en la comparación de métodos de transporte de los gases.

### **V.- GRÁFICAS de las EXPERIENCIAS DE LABORATORIO:**

- **Gráficas L1-L5:** mg de  $CO_2$  presentes en el espacio de cabeza en el momento de efectuar las medidas, y que han sido desprendidas a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $10^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L6-L10:** mg de  $CO_2$  presentes en el espacio de cabeza en el momento de efectuar las medidas, y que han sido desprendidas a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $25^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L11-L15:**  $\mu g$  de  $N_2O$  presentes en el espacio de cabeza en el momento de efectuar las medidas, y que han sido desprendidas a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $10^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L16-L20:**  $\mu g$  de  $N_2O$  presentes en el espacio de cabeza en el momento de efectuar las medidas, y que han sido desprendidas a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $25^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L21-L25:** velocidades relativas de desprendimiento de  $CO_2$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $10^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L26-L30:** velocidades relativas de desprendimiento de  $CO_2$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $25^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L31-L35:** velocidades relativas de desprendimiento de  $N_2O$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $10^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L36-L40:** velocidades relativas de desprendimiento de  $N_2O$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $25^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L41-L46:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de  $15^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L47-L50:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de  $20^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L51-L55:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de  $30^{\circ}C$  con cinco niveles de humedad diferentes.

- **Gráficas L56-L60:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de **35°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L61-L65:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{N}_2\text{O}$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de **15°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L66-L70:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{N}_2\text{O}$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de **20°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L71-L75:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{N}_2\text{O}$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de **30°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L76-L80:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{N}_2\text{O}$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de **30°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L81-L85:** velocidades relativas de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de **15°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L86-L90:** velocidades relativas de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de **30°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L91-L95:** velocidades relativas de desprendimiento de  $\text{N}_2\text{O}$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de **15°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L96-L100:** velocidades relativas de desprendimiento de  $\text{N}_2\text{O}$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de **30°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L101-L105:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **10°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L106-L110:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **15°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L111-L115:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **20°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L116-L120:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **25°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L121-L125:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **30°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L126-L130:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **35°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L131-L135:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{N}_2\text{O}$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **10°C** con cinco niveles de humedad diferentes.

- **Gráficas L136-L140:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **15°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L141-L145:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **20°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L146-L150:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **25°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L151-L155:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **30°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L156-L160:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PRADO**, sometido a una temperatura de **35°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L161-L165:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **10°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L166-L170:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **15°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L171-L175:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **20°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L176-L180:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **25°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L181-L185:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **30°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L186-L190:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $CO_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **35°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L191-L195:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **10°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L196-L200:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **15°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L201-L205:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **20°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L206-L210:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **25°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L211-L215:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **30°C** con cinco niveles de humedad diferentes.



- **Gráficas L216-L220:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de **35°C** con cinco niveles de humedad diferentes.
- **Gráficas L221-L224:** Emisión acumulada de  $CO_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **FORCAREI**, sometido a **5 niveles de humedad diferentes** y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso.
- **Gráficas L225-L229:** Emisión acumulada de  $CO_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **FORCAREI**, sometido a **4 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso.
- **Gráficas L230-L233:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **FORCAREI**, sometido a **5 niveles de humedad diferentes** y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso.
- **Gráficas L234-L238:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **FORCAREI**, sometido a **4 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso.
- **Gráficas L239-L244:** Emisión acumulada de  $CO_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PRADO**, sometido a **5 niveles de humedad diferentes** y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso.
- **Gráficas L245-L249:** Emisión acumulada de  $CO_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PRADO**, sometido a **6 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso.
- **Gráficas L250-L255:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PRADO**, sometido a **5 niveles de humedad diferentes** y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso.
- **Gráficas L256-L260:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PRADO**, sometido a **6 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso.
- **Gráficas L261-L266:** Emisión acumulada de  $CO_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PATATA**, sometido a **5 niveles de humedad diferentes** y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso.
- **Gráficas L267-L271:** Emisión acumulada de  $CO_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PATATA**, sometido a **6 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso.
- **Gráficas L272-L277:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PATATA**, sometido a **5 niveles de humedad diferentes** y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso.
- **Gráficas L278-L282:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PATATA**, sometido a **6 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso.
- **Gráfico L283:** Suelo de **FORCAREI**. Regresión:  $CO_2$  acumulado =  $z + bT^2 + dH + eT$ .
- **Gráfico L284:** Suelo de **PRADO**. Regresión:  $CO_2$  acumulado =  $z + bT^2 + dH + eT$ .
- **Gráfico L285:** Suelo de **PATATA**. Regresión:  $CO_2$  acumulado =  $z + bT^2 + dH + eT$ .
- **Gráfico L286:** Suelo de **FORCAREI**. Regresión:  $CO_2$  acumulado =  $z + aTH + bH^2 + eT$ .
- **Gráfico L287:** Suelo de **PRADO**. Regresión:  $CO_2$  acumulado =  $z + aTH + bH^2 + eT$ .
- **Gráfico L288:** Suelo de **PATATA**. Regresión:  $CO_2$  acumulado =  $z + aTH + bH^2 + eT$ .
- **Gráfico L289:** Suelo de **FORCAREI**. Regresión:  $N_2O$  acumulado =  $z + aTH + dH + eT$ .
- **Gráfico L290:** Suelo de **PRADO**. Regresión:  $N_2O$  acumulado =  $z + aTH + dH + eT$ .
- **Gráfico L291:** Suelo de **PATATA**. Regresión:  $N_2O$  acumulado =  $z + aTH + dH + eT$ .
- **Gráfico L292:** Suelo de **FORCAREI**. Regresión:  $N_2O$  acumulado =  $z + aTH + bH^2 + dH$ .
- **Gráfico L293:** Suelo de **PRADO**. Regresión:  $N_2O$  acumulado =  $z + aTH + bH^2 + dH$ .

–Gráfico L294: Suelo de PATATA. Regresión:  $N_2O$  acumulado =  $z + aTH + bH^2 + dH$ .

## **VI.- GRÁFICAS de las EXPERIENCIAS DE CAMPO:**

- Gráficas C1: Cinética del desprendimiento de  $CO_2$  en la primera experiencia con Purín.
- Gráficas C2: Cinética del desprendimiento de  $CH_4$  en la primera experiencia con Purín.
- Gráficas C3: Cinética del desprendimiento de  $N_2O$  en la primera experiencia con Purín.
- Gráficas C4: Cinética del desprendimiento de  $CO_2$  en la segunda experiencia con Purín.
- Gráficas C5: Cinética del desprendimiento de  $CH_4$  en la segunda experiencia con Purín.
- Gráficas C6: Cinética del desprendimiento de  $N_2O$  en la segunda experiencia con Purín.
- Gráficas C7: Campos de estabilidad de las especies químicas  $CO_2$  y  $CH_4$ . Pares (pH , pe) medidos en cada momento de la primera experiencia del purín (12-19/02/98).
- Gráficas C8 y C9:  $CO_2$  y  $N_2O$  acumulados a lo largo de 1 día durante el cual permanece instalada la cámara de muestreo sobre el suelo.
- Gráficas C10 y C11: Velocidades de emisión de  $CO_2$  y  $N_2O$  a lo largo de 1 día durante el cual permanece instalada la cámara de muestreo sobre el suelo.
- Gráficas C11 y C12: Velocidades de emisión de  $CO_2$  y  $N_2O$  a lo largo de 1 día. Instalando durante 2 horas la cámara de muestreo sobre el suelo y retirando dicha cámara en los períodos de tiempo "intermedias".
- Gráficas C13-C18: Comparación de las emisiones de  $CO_2$  y  $N_2O$  desde suelos: sin fertilizar(C15 y C18), el primer día tras la adición de purín (C14 y C17) y el segundo tras la adición de purín (C13 y C14).
- Gráfica C19: Precipitaciones totales mensuales en Sobrado, Navia y Pontareas durante el estudio.
- Gráfica C20: Temperaturas medias mensuales en Sobrado, Navia y Pontareas durante el estudio.
- Gráfica C21:  $CO_2$  emitido desde el suelo de Navia en Navia.
- Gráfica C22:  $CO_2$  emitido desde el suelo de Navia y Sobrado en Sobrado.
- Gráfica C23:  $CO_2$  emitido desde el suelo de Navia, Sobrado y Pontareas en Pontareas.
- Gráfica C24:  $N_2O$  emitido desde el suelo de Navia en Navia.
- Gráfica C25:  $N_2O$  emitido desde el suelo de Navia y Sobrado en Sobrado.
- Gráfica C26:  $N_2O$  emitido desde el suelo de Navia, Sobrado y Pontareas en Pontareas.
- Gráficas C27: Velocidades del  $CO_2$  emitido desde el suelo Sobrado, en Sobrado y trasladado a Pontareas.
- Gráficas C28: Velocidades del  $N_2O$  emitido desde el suelo Sobrado, en Sobrado y trasladado a Pontareas.
- Gráficas C29: Suelo de Sobrado (S ySp). Regresión:  $mgCO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$
- Gráficas C30: Suelo de Sobrado en Sobrado (S). Regresión:  $mg CO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$ .
- Gráficas C31: Suelo de Sobrado en Pontareas (P). Regresión:  $mgCO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$
- Gráficas C32: Velocidades del  $CO_2$  emitido desde el suelo de Navia, en Navia (N) y trasladado a Sobrado (Ns) y a Pontareas (Np).
- Gráficas C33: Velocidades del  $N_2O$  emitido desde el suelo de Navia, en Navia (N) y trasladado a Sobrado (Ns) y a Pontareas (Np).
- Gráficas C34: Suelo de Navia en distintas localizaciones (N, Ns y Np). Regresión:  $mgCO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$
- Gráficas C35: Suelo de Navia en Navia (N). Regresión:  $mg CO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$
- Gráficas C36: Suelo de Navia en Sobrado (Ns). Regresión:  $mg CO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$
- Gráficas C37: Suelo de Navia en Pontareas (Np). Regresión:  $mg CO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$

## **Índice de tablas.-**

### **I.- TABLAS de la INTRODUCCIÓN:**

- **Tabla I1:** Composición de los primeros 100 kms de la atmósfera terrestre.
- **Tabla I2:** Fuentes antropogénicas, sumideros y tiempo de permanencia en la atmósfera, de los principales gases invernadero.

### **VI.- TABLAS de la OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:**

- **Tabla M1:** Composición de la botella patrón nº1.
- **Tabla M2:** Composición de la botella patrón nº2.
- **Tabla M3:** Composición de la botella patrón nº3.
- **Tabla M4:** Resultados del cálculo del aire residual.
- **Tabla M5:** Resultados de la prueba de Levene para la comparación de métodos de transporte de los gases:  $N_2O$ ,  $CH_4$  y  $CO_2$ .
- **Tabla M6:** Resultados del ANOVA para la comparación de métodos de transporte de los gases:  $N_2O$ ,  $CH_4$  y  $CO_2$ .
- **Tabla M7:** Datos sobre la linealidad del método. Ecuación de calibración:  $y=bx$ .
- **Tabla M8:** Resultados de los límites de detección (LD: Señal/ruido = 3).
- **Tabla M9:** Resultados de la precisión del método.
- **Tabla M10:** Potenciales de ionización.
- **Tabla M11:** Masas de los principales fragmentes de cada compuesto.

### **V.- TABLAS de las EXPERIENCIAS DE LABORATORIO:**

- **Tabla L1:** Datos sobre la humedad de los suelos y agua que es necesario añadir.
- **Tabla L2:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de FORCAREI. Variable dependiente:  $CO_2$  acumulado.
- **Tabla L3:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de PRADO. Variable dependiente:  $CO_2$  acumulado.
- **Tabla L4:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de PATATA. Variable dependiente:  $CO_2$  acumulado.
- **Tabla L5:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de FORCAREI. Variable dependiente:  $N_2O$  acumulado.
- **Tabla L6:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de PRADO. Variable dependiente:  $N_2O$  acumulado.
- **Tabla L7:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de PATATA. Variable dependiente:  $N_2O$  acumulado.
- **Tabla L8:** Modelos lineales polinómicos que explican la emisión de  $CO_2$  desde de tres suelos distintos y a partir de tres variables independientes: temperatura (T), humedad (H) y tiempo de incubación (D= días).

- **Tabla L9:** Modelos lineales polinómicos que explican la emisión de  $N_2O$  desde de tres suelos distintos y a partir de tres variables independientes: temperatura (T), humedad (H) y tiempo de incubación (D= días).
- **Tabla L10:** Modelos lineales polinómicos que explican la emisión de  $N_2O$  desde de tres suelos distintos y a partir de dos variables independientes: temperatura (T) y humedad (H).
- **Tabla L11:** Modelos lineales polinómicos que explican la emisión de  $CO_2$  desde de tres suelos distintos y a partir de dos variables independientes: temperatura (T) y humedad (H).

## **VI. - TABLAS de las EXPERIENCIAS DE CAMPO:**

- **Tabla C1:** Test de la diferencia de medias para los datos climáticos.
- **Tabla C2:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante". Variable dependiente: velocidad de emisión del  $CO_2$  para el suelo de Sobrado, en su lugar de origen y trasladado a Ponteareas.
- **Tablas C3 y C4:** Resultados de las regresiones aplicando los modelos de las experiencias de laboratorio. La variable dependiente es la emisión de  $CO_2$  para el suelo de Sobrado (tanto en su lugar de origen como trasladado).
- **Tabla C5:** Términos de la regresión  $mgCO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$ , aplicada: al suelo de Sobrado independientemente de la localización (S y Sp), al suelo de Sobrado en su lugar de origen (S), y al suelo de Sobrado trasladado a Ponteareas (Sp).
- **Tabla C6:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante". Variable dependiente: velocidad de emisión del  $N_2O$  para el suelo de Sobrado, en su lugar de origen y trasladado a Ponteareas.
- **Tablas C7 y C8:** Resultados de las regresiones aplicando los modelos de las experiencias de laboratorio. La variable dependiente es la emisión de  $N_2O$  para el suelo de Sobrado (tanto en su lugar de origen como trasladado).
- **Tabla C9:** Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante". Variable dependiente: velocidad de emisión del  $CO_2$  para el suelo de Navia, en su lugar de origen y trasladado a Sobrado y a Ponteareas.
- **Tablas C10 y C11:** Resultados de las regresiones aplicando los modelos de las experiencias de laboratorio. La variable dependiente es la emisión de  $CO_2$  para el suelo de Navia (tanto en su lugar de origen como trasladado).
- **Tabla C12:** Términos de la regresión  $mgCO_2/m^2 \cdot h = z + aTH + bH^2 + eT$ , aplicada: al suelo de Navia independientemente de la localización (N, Ns y Np), al suelo de Navia en su lugar de origen (N), y al suelo de Navia trasladado, por un lado a Sobrado (Ns) y por otro, a Ponteareas (Np).
- **Tablas C13 y C14:** Resultados de las regresiones aplicando los modelos de las experiencias de laboratorio. La variable dependiente es la emisión de  $N_2O$  para el suelo de Navia (tanto en su lugar de origen como trasladado).



## **Índice de abreviaturas.-**

- A:** Área.
- ACS:** “American Chemical Society”.
- AED:** “Atomic Emission Detection”. Detección por emisión atómica.
- AOAC:** “Association of Official Analytical Chemists”.
- APCI:** Fuente de Ionización Química.
- aq:** Acuoso.
- B:** Blanco.
- BOE:** Boletín Oficial del Estado.
- C:** Concentración (mg/L).
- CAS:** “Chemical Abstract Substance”.
- CFC’s:** “Chlorinated fluorocarbons”. Compuestos de carbono fluoro-clorados.
- col.:** Colaboradores.
- d.i.:** Diámetro Interno.
- d:** Densidad.
- D:** Tiempo (días).
- DPFC:** “Digital Pressure and Flow Control”. Control digital de flujo y presión.
- ECD:** “Electron Capture Detector”. Detector de captura de electrones.
- Ej.:** Ejemplo.
- EPA:** “Environmental Protection Agency”.
- FID:** “Flame Ionization Detector”. Detector de ionización de llama.
- FL:** Fluorescencia.
- FPD:** “Flame Photometric Detector”. Detector fotométrico de llama.
- FS:** “Full Scan”. Barrido completo.
- FTIR:** “Fourier Transform Infrared emission analyzer”.
- g:** Gas.
- GC:** “Gas Chromatography”. Cromatografía de gases.
- GSC:** “Gas Solid Chromatography”. Cromatografía gas-sólido.
- H:** Humedad.
- HPLC:** “High Performance Liquid Chromatography”. Cromatografía líquida de alta resolución.
- HRGC-ITD:** “High Resolution Gas Chromatography – Ion Trap Detection”. Cromatografía gaseosa de alta resolución con detección por atrapamiento de iones.
- HS:** “Head Space”. Espacio de cabeza.
- HSGC:** “Head Space Gas Chromatography”. Cromatografía de gases con espacio de cabeza.
- I+D:** Investigación y Desarrollo.

- ILS**: “Isotopically Labeled Internal Standards”. Estándar Interno marcado isotópicamente.
- IPCC**: “Intergovernmental Panel on Climate Change”. Panel intergubernamental sobre el cambio climático.
- IR**: Infrarrojo.
- ISO**: “International Standardization Organization”.
- ITC**: “Ion Trap Detection”. Detector de atrapamiento de iones.
- K**: Constante de equilibrio.
- LD**: Límite de detección.
- m**: Masa.
- M**: Muestra.
- micro-TCD**: “micro-Thermal Conductivity Detection”. Micro-detector de termoconductividad.
- MS**: “Mass Spectrometry”. Espectrometría de masas.
- n**: Número de casos estudiados.
- N**: Suelo de Navia.
- Np**: Suelo de Navia trasladado a Pontearreas.
- Ns**: Suelo de Navia trasladado a Sobrado.
- p.e.**: Por ejemplo.
- P**: Patrón.
- Pág.**: Página.
- P<sub>eq</sub>**: Peso del equivalente (g).
- PF<sub>2</sub>**: Humedad correspondiente a la capacidad de campo. Se trata de la capacidad de retención de agua de un suelo sometido a una presión tal, que haga que los macroporos queden libres y solamente quede retenida el agua de los microporos. (Se considera la humedad óptima para un suelo, ya que a la vez está aireado y posee humedad).
- PID**: “PhotoIonization Detector” Detector de fotoionización.
- P<sub>s</sub>**: Peso del suelo (g).
- PVC**: “Poly Vinyl Chloride”. Poli(cloruro de vinilo).
- r**: Coeficiente de correlación
- R**: Reactivo.
- r<sup>2</sup>**: Coeficiente de determinación.
- REF**: Referencia.
- RF**: “Response Factor”. Factor de respuesta.
- S**: Suelo de Sobrado.
- SCD**: “Sulfur Chemiluminescence Detector”. Detector de azufre por quimioluminiscencia.
- SD**: “Standard Deviation”. Desviación estándar.
- SEO**: Sociedad Española de Oxígeno.
- sh**: Suelo húmedo.
- SIR**: “Single Ionization Recording”. Sintonización de masas características.

- Sp**: Suelo de Sobrado trasladado a Pontearreas.
- SPME**: “Solid Phase MicroExtraction“. Microextracción en fase sólida.
- ss**: Suelo seco.
- Sup**: Superficie.
- T**: Temperatura.
- TCD**: “Thermal Conductivity Detection“. Detector de termoconductividad.
- TPN**: “Theoric Plates Number“. Número de Platos Teóricos.
- tr**: Tiempo de retención.
- UV**: Ultravioleta.
- V**: Volumen.
- VIS**: Visible.
- V<sub>v</sub>**: Volumen del vial.
- z**: Carga.
- λ**: Longitud de onda.
- Σ**: Sumatorio.
- ®**: Marca registrada.

No se incluyen las abreviaturas del Sistema Métrico Internacional, ni las estadísticas o interpretables por su contexto (ver Decreto 25 de Abril 1974, nº 1257/74, publicado en el BOE del 8 de Mayo de 1974, nº110).



## **I.- INTRODUCCIÓN.-**

## **I.1.- El Planeta se calienta.-**

Hace ahora algo más de un siglo, el sueco Svante Arrhenius señaló que el aumento de la concentración de dióxido de carbono en la atmósfera, debido a la actividad humana, terminaría produciendo un calentamiento global del planeta. Arrhenius reconoció en su estudio de 1896, las contribuciones hechas anteriormente para la comprensión del efecto invernadero por el matemático francés Jean-Baptiste Fourier, que se remontan a 1827. Sin embargo, no era la intención de Arrhenius el pronosticar ninguna catástrofe, más bien consistía en demostrar cómo un descenso en el contenido de CO<sub>2</sub> podía haber provocado una glaciación. Su anuncio no pasó entonces de ser una curiosidad más entre los muchos pronósticos sobre el siglo que se avecinaba. (Vázquez, 1998).

Hacia 1930, la idea de la existencia de un calentamiento de la Tierra empezó a tomar cuerpo. Probablemente ya entonces la típica frase de *los inviernos ahora ya no son lo que eran* empezó a tener sentido. En 1938, Guy Callendar presentó un trabajo en la Real Sociedad Meteorológica de Londres anunciando que desde 1890 el nivel de CO<sub>2</sub> en la atmósfera había aumentado en un 10 por 100, lo cual había producido un calentamiento de la Tierra en ese mismo período. Sin embargo, poca preocupación se mostraba al respecto e incluso parecía algo positivo, pues se consideraba como el desencadenante de nuevas oportunidades, algunas de las cuales todavía hoy encuentran con algún defensor (cada vez menos) en nuestra sociedad actual (IPCC, 2000):

- Podría incrementarse la agricultura en regiones donde hasta entonces se consideraba limitada por las bajas temperaturas, un ejemplo serían los terrenos de Siberia.
- El helado mar Ártico podría ser navegado en su superficie, en áreas donde hasta ese momento había sido imposible.
- El aumento de temperatura en invierno disminuiría la mortalidad en períodos de frío.

Además, con el final de la Segunda Guerra Mundial comenzó una época de una fe ciega en el desarrollo tecnológico y la creencia de que éste podría llegar a resolver cualquier situación, llevaba a suponer que sería la misma tecnología la que encontrase soluciones a los

problemas por ella misma ocasionados. También surgió la tesis que explicaba que el exceso de dióxido de carbono podría ser disuelto por las aguas de los océanos. Sin embargo, trabajos de científicos de los años cincuenta, demostraron la imposibilidad de esta teoría.

La comunidad científica empezaba a inquietarse con el tema. A principios de los años sesenta se llevaron a cabo una serie continuada de medidas en lugares poco contaminados tales como la Antártida o el Observatorio de Mauna Loa en las islas Hawai. Al poco tiempo era un hecho demostrado el continuo incremento de la concentración de dióxido de carbono en la atmósfera. Desde entonces, científicos de todas las nacionalidades intentan ponerse de acuerdo sobre si existe cambio climático real o no, si éste es debido al aumento de CO<sub>2</sub> de origen antropogénico y sobre sus posibles consecuencias para nuestro planeta.

La velocidad de cambio y el forzado calentamiento, además de inducir riesgos de sequías, puede afectar al éxito de adaptación de las especies. Algunas de ellas podrían verse seriamente afectadas o incluso desaparecer de la faz de nuestro planeta, en especial aquellas que ya se encuentran actualmente en peligro de extinción, o las que están adaptadas a estrechas posiciones en habitats discontinuos que impiden y bloquean la migración. De esta manera pueden verse adversamente afectadas por las variaciones climáticas, tanto especies animales como vegetales, así como sistemas naturales como puede ser el caso de arrecifes de coral, zonas costeras, praderas húmedas... (IPCC, 2000).

Parece irónico que el hombre haya soñado siempre con controlar y predecir el clima del Planeta, suponiendo que con ello se evitarían catástrofes y se emplearían al máximo los recursos naturales, y que sea el mismo ser humano el que con su evolución y desarrollo esté, no controlando pero sí interfiriendo directamente en lo que ha de ser el clima del futuro. Pero, cabe preguntarnos si el propio desarrollo tecnológico hará posible seguir manteniendo en el futuro las condiciones de vida de que disfrutamos en la actualidad, o por el contrario corre peligro la civilización tal y como la concebimos hoy en día.

## **I.2.- El clima.-**

El Instituto Nacional de Meteorología define el CLIMA como el conjunto de condiciones atmosféricas que caracterizan a una región, determinado a lo largo de un período de tiempo de varias décadas (idealmente 3 o más). Los principales constituyentes del clima son:

- \* La *radiación solar*, que incide de forma fundamental en la *temperatura* (se tendrá en cuenta la temperatura media, máxima y mínima, la amplitud y oscilación térmica en determinados períodos de tiempo)
- \* La *precipitación* (cantidad, naturaleza, persistencia, intensidad, distribución estacional).
- \* Los *vientos*, cuyas características se ven notablemente influenciadas por las oscilaciones térmicas.

Existen dos tipos de factores determinantes del clima:

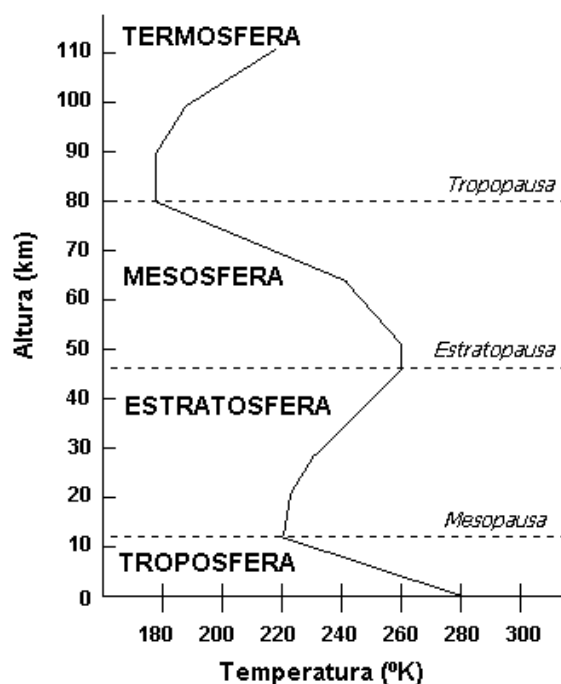
1. Factores terrestres.- *el espesor de la atmósfera*: la radiación al atravesarla es absorbida y dispersada por sus constituyentes; *el efecto de la superficie de las nubes*; *la latitud*, que condiciona el efecto de la radiación solar; *la altitud*, que incide en la presión y temperatura, y *la distribución entre tierras y mares*, que ejerce una acción modificadora o moderadora de los restantes factores.
2. Factores astronómicos.- *la constante solar* o energía que alcanza la superficie externa de la atmósfera; *la distancia al sol*, diferente debido a la excentricidad de la órbita terrestre; *la altitud del sol* y *la duración del día*, ambos factores están condicionados por la latitud y deben su importancia a la inclinación del eje de la Tierra (responsable en último término de la estacionalidad del clima).

Existen diversos criterios para la clasificación de los climas y su delimitación geográfica, si bien el más clásico distingue cinco grandes zonas climáticas: el clima tropical lluvioso, el seco o árido, el templado lluvioso (donde se encuentra el clima mediterráneo) y los climas fríos y polar.

### **I.3.- La atmósfera.-**

Es la capa gaseosa que envuelve algunos planetas y otros cuerpos celestes. Según el Instituto Nacional de Meteorología, la atmósfera terrestre consiste en una mezcla de gases (aire) formada por nitrógeno (78%), oxígeno (21%), gases inertes, hidrógeno, dióxido de carbono y vapor de agua. El conjunto adquiere una característica coloración azul debido a la dispersión de la luz solar por las moléculas del aire.

En la atmósfera se pueden diferenciar las siguientes capas, en función de su composición y temperatura: la *troposfera* o capa inferior, donde tiene lugar los llamados fenómenos meteorológicos y que contiene el 70% del peso total de la atmósfera, la *estratosfera*, caracterizada por la ausencia de vapor de agua y porque parte del oxígeno presente se encuentra en forma triatómica constituyendo la capa de ozono, de vital importancia por su función de absorción de las radiaciones ultravioleta, ya que si llegaran directamente a la superficie terrestre destruirían todo vestigio de vida en ella. A continuación están la *mesosfera* y la *termosfera* y a partir de los 500 km y hasta una altura indeterminada se halla la *exosfera*.



**Figura I1: Distribución de las temperaturas en la atmósfera terrestre.**

La composición de la atmósfera de cada planeta es diferente y viene determinada por la historia particular del planeta y por propiedades del mismo. La composición del aire es consecuencia directa de los aportes de elementos gaseosos desde el interior de la tierra y de la presencia de vida sobre la misma (Turekian, 1996).

Los gases mayoritarios en la atmósfera terrestre (nitrógeno y oxígeno) se deben a la acción de los organismos. La fotosíntesis de las plantas aporta oxígeno que será utilizado por los macroorganismos y microorganismos en la respiración. Los compuestos de nitrógeno indispensables para la vida de los seres vivos son devueltos a la atmósfera como resultado de



su metabolismo (desnitrificación), donde, mediante la acción de la luz, el nitrógeno atmosférico se convierte en formas moleculares capaces de ser usadas por los organismos vivos. El tercer gas más abundante en la atmósfera es el Argón (1% por volumen), el cual se caracteriza por ser químicamente no reactivo. La forma presente dominante es el isótopo  $^{40}\text{Ar}$  que es producido, mediante procesos de radiactividad, a partir del potasio  $^{40}\text{K}$  en las rocas. La energía interna de la tierra hace posible la acumulación de  $^{40}\text{Ar}$  en la corteza y en el manto, y el activo intercambio entre la superficie terrestre y la atmósfera posibilita su aporte a esta última.

Constituyente	Peso molecular	Contenido (%)
Nitrógeno ( $\text{N}_2$ )	28,02	78,08
Oxígeno ( $\text{O}_2$ )	32,00	20,95
Argón (A)	39,94	0,93
Vapor de agua ( $\text{H}_2\text{O}$ )	18,02	0-4,0
Dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ )	44,01	0,0365
Neón (Ne)	20,18	0,0018
Helio (He)	4,00	0,0005
Kriptón (Kr)	83,70	0,0001
Hidrógeno (H)	2,02	0,0006
Metano ( $\text{CH}_4$ )	16,04	0,0002
Ozono ( $\text{O}_3$ )	48,00	0-0,0012

**Tabla I1: Composición de la atmósfera terrestre (primeros 100 kms). El contenido se expresa en tanto por ciento del número total de moléculas existentes.** Fuente: J.M. Wallace y P.V. Hobbs, 1977, *Atmospheric Science*, Academic Press.

Entre los componentes minoritarios están el vapor de agua y el dióxido de carbono, que son los encargados de controlar la temperatura de la superficie del planeta y por tanto posibilitan y mantienen la vida sobre él. El primero de ellos es el resultado del fenómeno de evaporación desde la superficie de los océanos, a los que volverá mediante precipitaciones originadas por enfriamientos por convección. La concentración de dióxido de carbono en la atmósfera es el resultado directo de fotosíntesis y respiración. Esta concentración cambia estacionalmente en el hemisferio norte (donde se encuentran la mayor parte de las tierras de nuestro planeta), el crecimiento de las plantas al final de la primavera y verano ocasiona una disminución de  $\text{CO}_2$  en la atmósfera, mientras que un aumento de la velocidad de oxidación del carbono almacenado para el invierno, tiene lugar al comienzo de la primavera cuando la descomposición bacteriana se ve estimulada con los incrementos de temperatura. Pero, a mayores de estas oscilaciones estacionales, se tiene constancia de que se está produciendo un

incremento constante de la concentración de dióxido de carbono en el aire como consecuencia directa de la actividad antropogénica que será tratado más adelante

La importancia que el vapor de agua y el dióxido de carbono tienen, viene determinada por su propiedad esencial de ser responsables del calentamiento de la superficie de la Tierra a través de la absorción de radiación. Este proceso es lo que se conoce comúnmente como *efecto invernadero*.

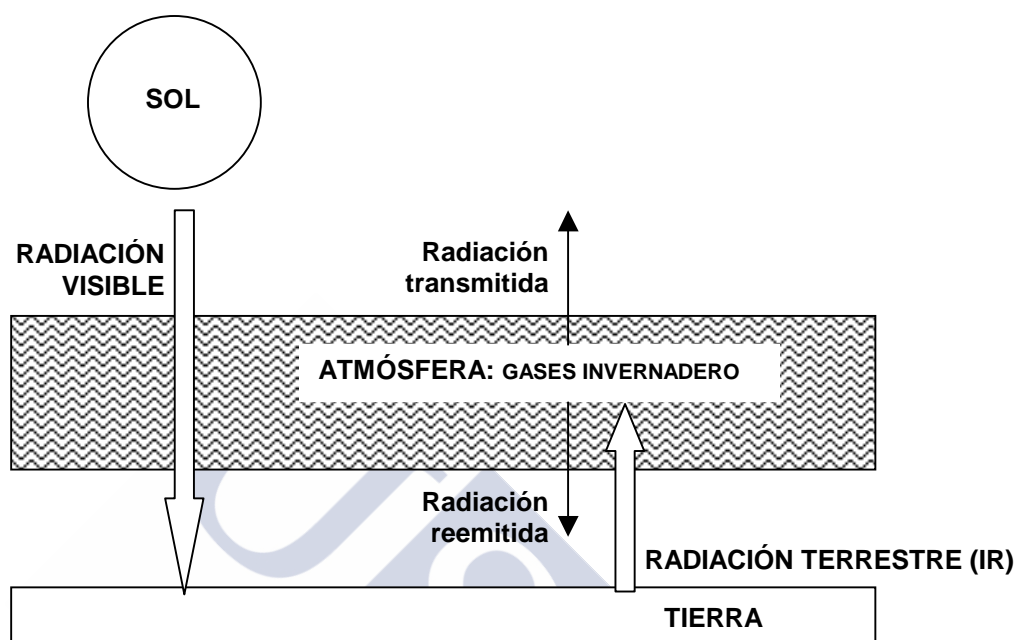
#### **I.4.- El efecto invernadero.-**

Es el efecto que se produce al interponer un vidrio entre la radiación solar y un recinto cerrado. El vidrio deja pasar fácilmente la radiación visible incidente de corta longitud de onda, pero es totalmente reflector para la radiación del receptor, que al elevar su temperatura, emite en la zona del infrarrojo. De este modo el calor radiante del sol queda “atrapado” entre la superficie receptora y las paredes del vidrio. Esta estrategia es la que se emplea desde hace siglos en floricultura y horticultura para el mejor desarrollo de las plantas en climas poco favorables.

En 1827, Jean Fourier (1768-1830) había señalado que la Tierra se conserva caliente debido a que su atmósfera atrapa el calor emitido por la superficie como si estuviera debajo de una vidriera de cristal, por lo que recibió el nombre de efecto invernadero, en analogía a los invernaderos agrícolas. Fue Jonh Tyndall (1820-1893) en 1859, quien descubrió que además del vapor de agua, el bióxido de carbono y el metano eran los gases que primariamente intervenían en tal efecto.

La energía solar que nos llega en forma de radiaciones de onda corta, atraviesa la atmósfera, recalienta la superficie del planeta y vuelve a salir en forma de rayos infrarrojos de mayor longitud de onda. Pero si esa radiación fuese directamente al espacio, la temperatura terrestre sería 33 grados menor que la que conocemos y por tanto la tierra sería inhabitable. Por fortuna, la atmósfera juega un papel eficaz en este sentido, gracias a los gases con efecto invernadero es absorbida gran parte de las radiaciones infrarrojas, consiguiendo una elevación de la temperatura de la corteza terrestre. El fenómeno de invernadero no es pues, un fenómeno

creado por el hombre, sino que es perfectamente natural y ha influido en el desarrollo de nuestros ecosistemas, estabilizando la temperatura a valores propicios para toda forma de vida. Cuando el hombre aumenta los gases con efecto invernadero perturba este equilibrio natural.



**Figura I2: Esquema simplificado del efecto invernadero.**

Por su situación en el sistema solar y su semejanza de tamaño con la Tierra, Venus fue considerada durante mucho tiempo el planeta gemelo del nuestro, se estimaba que por su distancia del Sol, la temperatura de su superficie podría ser de unos 70 u 80°C, lo cual podría permitir la existencia de vida distinta a la humana. Sin embargo, hoy se sabe que la atmósfera de Venus es mucho más gruesa que la de la Tierra y que está constituida por un 97% de CO<sub>2</sub>, lo cual hace que la temperatura superficial de este planeta sea de unos 477°C, con un calentamiento invernadero estimado en 523°C. Por otro lado, la atmósfera de Marte es mucho más delgada y casi no tiene gases de invernadero, lo que hace que, aún estando a una distancia del Sol muy similar a la Tierra, este planeta sea mucho más frío imposibilitando la existencia de agua líquida (sólo hay hielo) y, hasta el momento, no se ha descubierto vida de ningún tipo.

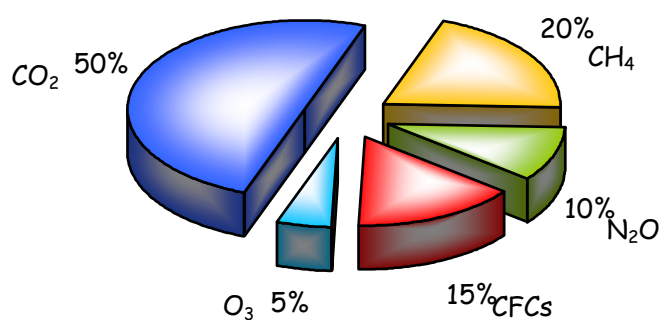
Se podría considerar a Venus “el planeta del efecto invernadero”. Parece irónico que por nuestra propia actividad se consiguiese llegar a hacer realidad una vieja creencia, y que la

Tierra llegase a ser, en un futuro, el planeta gemelo de Venus ([www.inaoep.mx/~alberto/sintesis/venus3.html](http://www.inaoep.mx/~alberto/sintesis/venus3.html)).

### **I.5.- Los gases invernadero.-**

Es desde la llamada Revolución Industrial, cuando el hombre cambia sus hábitos de vida, con la utilización de la máquina de vapor, se sustituye el esfuerzo humano o animal como manera de obtener energía. En 1859, el descubrimiento del petróleo hace que éste se una a la lista de combustibles fósiles. La quema de carbón, gas natural y petróleo para obtención de energía, devuelven a la atmósfera, de manera rápida y en forma de  $\text{CO}_2$ , el carbono procedente de organismos vivos que ha tardado millones de años en acumularse en las profundidades marinas o en la corteza terrestre (Tans y Bakwin, 1995). Y no sólo esto, el hombre, que ya poblaba casi todos los lugares del planeta, necesitaba cada vez más alimentos, ropas, muebles, casas, caminos... A este ritmo, la industria se desarrolló de una manera impensable, nuevas máquinas facilitaron el trabajo, enormes plantaciones cubrieron grandes superficies de nuestro planeta, y todo ello, unido a la manutención de animales y las talas de bosques, se traduce en la producción de grandes cantidades de gases invisibles que se expanden por la atmósfera: gases invernadero. ([www.conicyt.cl/explora/noticias](http://www.conicyt.cl/explora/noticias)).

Los principales gases con efecto invernadero son seis: vapor de agua, dióxido de carbono, metano, ozono, óxido nitroso y los compuestos de carbono fluoro-clorados (CFC's: "Chlorinated Fluorocarbons").



**Figura I3: Emisiones de los diversos gases invernadero que contribuirán al forzamiento climático, Pearman, 1992. Comentados por Krumbein, 1995.**

<b>GAS INVERNADERO</b>	<b>Fuentes antropogénicas principales de emisión</b>	<b>Principales sumideros</b>	<b>Tiempo de residencia en la atmósfera</b>
Vapor de agua		-Precipitaciones	10 días
Dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> )	-Combustibles fósiles -Deforestación -Destrucción de la materia orgánica del suelo	-Fotosíntesis -Solubilidad en océanos -Sedimentación marina -Silicatos de las rocas	500 años
Metano (CH <sub>4</sub> )	-Plantaciones arroz -Animales domésticos -Vertederos y aguas residuales -Minería / gas natural / industria petroquímica -Quema de biomasa	-Reacción con OH -Oxidación por el suelo	7 – 10 años
Óxido nitroso (N <sub>2</sub> O)	-Uso de fertilizantes -Combustibles fósiles -Prados -Incremento de áreas cultivadas -Quema de biomasa	-Fotólisis en la estratosfera. -Transformación a N <sub>2</sub> por el suelo.	140 – 190 años
CFC's	-Refrigeradores -Aerosoles -Equipos de aire acondicionado -Embalajes		65 – 110 años
Ozono (O <sub>3</sub> )	-Generadores eléctricos -Gases de automóviles	-Destrucción por CFCs.	De horas a días en la baja atmósfera.

**Tabla I2: Fuentes antropogénicas, sumideros y tiempo de permanencia en la atmósfera, de los principales gases invernadero.**

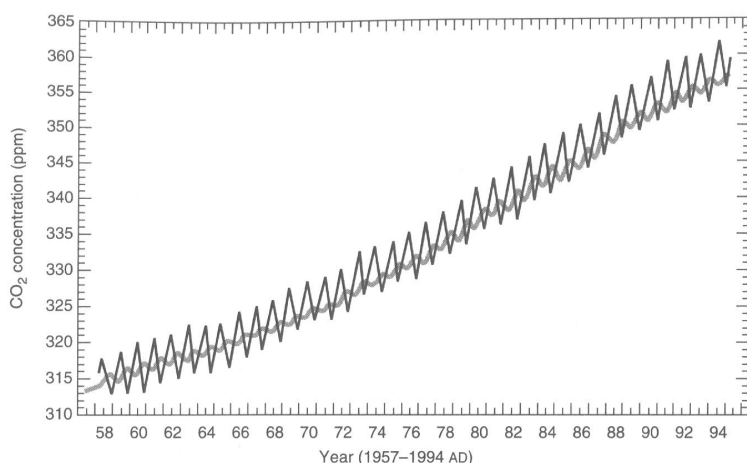
### **I.5.1.- El vapor de agua.-**

El vapor de agua, es el principal factor responsable del calentamiento por el efecto invernadero, sin embargo, su concentración en la atmósfera no se ha visto modificada por procesos de origen humano, además de que tiene un corto tiempo de residencia en ella cifrado en unos diez días de promedio. A escala global la superficie de la Tierra puede considerarse como una gigantesca planta de destilación: la energía solar provoca la evaporación de agua en océanos y en tierra, a donde volverá mediante la precipitación. Si bien un aumento de temperatura haría acelerar el ritmo de evaporación aumentando en principio el calentamiento por efecto invernadero, también aumentará el nivel de precipitaciones, por lo que el efecto neto no es evidente.

### I.5.2- El dióxido de carbono: CO<sub>2</sub>. CAS: [124-38-9].-

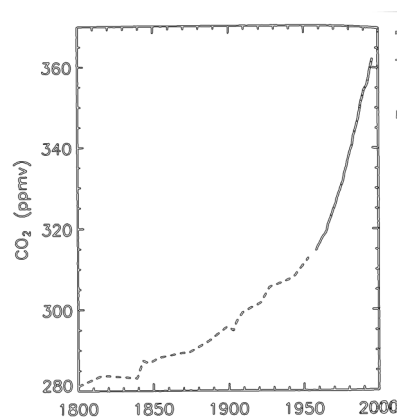
El dióxido de carbono es también denominado anhídrido carbónico o gas carbónico ácido. El valor de su masa molecular es 44,01. Se trata de un gas incoloro, inodoro y no combustible. La densidad del gas es 1,527 (aire = 1 atm) y la del líquido 0,914 (temperatura = 0°C, presión = 34,3 atm). Su temperatura de sublimación es -78,48 °C, mientras su punto de ebullición es -120 °C. (Merck Index).

La información más evidente de su variación en la atmósfera en los últimos 150 años, la constituyen las medidas de Mauna Loa. Además, las medidas de CO<sub>2</sub> en los hielos polares, sirven como un indicador independiente en la fase anterior a la actividad industrial. Gráficas siguientes:



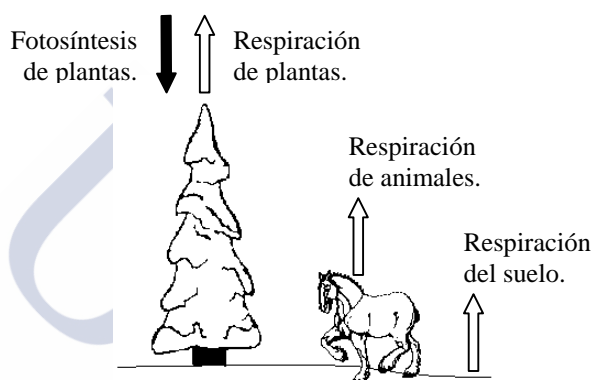
**Figura I4:** Las medidas de la concentración de CO<sub>2</sub> en el aire de Mauna Loa (Hawái), muestran las variaciones debidas al oscilamiento estacional y el incremento en la concentración en el período medido.

**Figura I5:** Aumento global del CO<sub>2</sub>. Medidas realizadas desde el Observatorio de Mauna Loa (Hawái), a las que se han añadido las determinaciones en los hielos polares de la estación de Siple (línea discontinua).



Sin embargo, el actual incremento es sólo reflejo en un 45-50% del incremento teórico que cabría esperar por el aumento de utilización de combustibles fósiles (Krumbein, 1995), y esto es debido al equilibrio natural que la atmósfera mantiene con la biosfera, los océanos y la litosfera, cuyo balance total se traduce en una serie de fuentes y sumideros de carbono. Los intercambios entre los mismos interfieren pues, de una manera dinámica en el sistema climático.

### 1.- Intercambio biosfera-atmósfera:



**Figura I6: Intercambio de CO<sub>2</sub> entre la atmósfera y la porción de biosfera terrestre.**

Los organismos vegetales utilizan la energía solar para transformar agua y dióxido de carbono (que sustraen de la atmósfera) en materia orgánica. Se comportan de este modo tanto los organismos fotosintéticos terrestres como los marinos (Goudriaan, 1979; Krumbein, 1995).

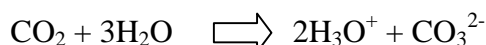
La reacción inversa es la respiración, proceso utilizado por los seres vivos para la obtención, a partir de materia orgánica, de la energía que necesitan. Como resultado de este mecanismo, se produce un aporte de CO<sub>2</sub> a la atmósfera. Las bacterias del suelo también jugarán un papel activo en este aporte, esencialmente en la descomposición de materia orgánica muerta.

Los restos de seres vivos suponen una parte de C no devuelto a la atmósfera pero pueden llegar a transformarse en carbón mineral después de miles y miles de años de presión y calor, recubiertos por rocas y sedimentos. Un proceso similar tiene lugar cuando mueren los millones de pequeñas criaturas que forman el plancton marino, sus restos descienden hacia

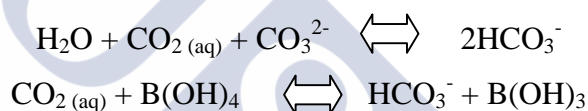


capas más profundas de los océanos, y son recubiertos por sedimentos que, mediante procesos complejos y el transcurso de millones de años, pueden llegar a dar lugar al petróleo o gas natural. (Horel and Geisler, 1997).

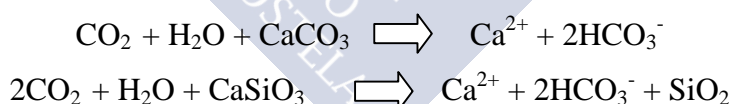
2.- *Intercambio océano-atmósfera:* La concentración del CO<sub>2</sub> en los océanos aumenta con la presión parcial del gas y disminuye al aumentar la temperatura del agua. La capa superficial de los océanos intercambia anualmente unas 90 gigatoneladas con la atmósfera (Vázquez, 1998). Se producen iones carbonato:



La capacidad química que tienen los océanos para absorber el CO<sub>2</sub> adicional procedente (en su mayor parte) de la quema de combustibles fósiles, viene determinada por las cantidades de iones carbonato y borato disueltos (Tans y Bakwin, 1995).



3.- *Intercambio litosfera-atmósfera:* El agua existente en la litosfera (lluvia, ríos, fuentes...) actúa como catalizador de la reacción del CO<sub>2</sub> con los principales componentes de las rocas terrestres (carbonatos y silicatos de calcio), contribuyendo de esta manera a la absorción del CO<sub>2</sub> de la atmósfera (Vázquez, 1998).



Los productos de la reacción van a parar al mar, a través de los ríos, donde los organismos invierten la primera de estas dos reacciones para producir los carbonatos de sus esqueletos, volviendo a liberarse el CO<sub>2</sub>. No ocurre lo mismo en el caso de los silicatos, que parece que son un verdadero sumidero para el exceso de CO<sub>2</sub> en la atmósfera (Krumbein, 1995).

### I.5.3.- El metano: CH<sub>4</sub>. CAS: [74-82-8].-

El metano es también conocido como “gas de los pantanos o hidruro de metilo”. Su masa molecular es 16,04. Se trata de un gas incoloro, inodoro e inflamable. El valor de su



densidad es  $d_4^0 = 0,554$  ó  $0,7168$  g / L (aire=1 atm). Su punto de ebullición está en  $161,4^\circ\text{C}$ . Su punto crítico viene determinado por una temperatura de  $-82,25^\circ\text{C}$  y una presión de  $45,8$  atm. (Merck Index).

El metano juega un papel muy importante en las reacciones fotoquímicas de la troposfera y estratosfera. Las variaciones en su concentración influirán directamente en la llamada química atmosférica. (Minami y Takata, 1997).

Se han llevado a cabo varios intentos de mediciones de  $\text{CH}_4$  en la atmósfera que indican un aumento de concentración en la última década de un 1% por año (Cao y col., 1995; Watson y col., 1997 y Segers, 1998). Sin embargo, los análisis de bloques de hielo revelan que la concentración de metano fue constante hasta hace 300 años, incrementándose su concentración desde el principio del siglo XIX. (Minami y Takata, 1997). Siendo incluso, para algunos científicos, su incremento más rápido que el del  $\text{CO}_2$ . (Badjes y Bridges, 1994).

Generalmente es considerado como el segundo en importancia por su responsabilidad en el cambio climático inducido. Los distintos autores le atribuyen desde el 15% (Houghton y col., 1990; Badjes y Bridges, 1994) al 19% (Krumbein, 1995, Hütsch, 1998) de responsabilidad en el forzamiento del calentamiento global.

De manera natural, sin intervención del hombre, la producción de metano tiene como origen lugares húmedos (pantanos...), las termitas, los océanos, las masas de agua dulce o los sedimentos de hidratos de  $\text{CH}_4$  (UNEP, 1993).

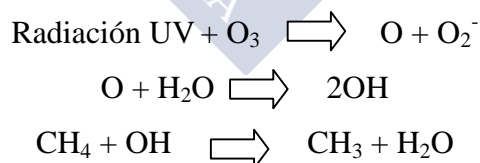
Pero la actividad antropogénica es nuevamente responsable de un incremento de metano en la atmósfera. Los campos de arroz, de los que el 90% están localizados en Asia (donde representa el cultivo más importante), son uno de los principales responsables en este aspecto. Se espera que desde 1989 hasta el 2020, el cultivo de arroz aumente en un 60% (Braatz y Hogan, 1991). Se están estudiando nuevas técnicas agrícolas y sistemas de regadío que disminuyan la producción de  $\text{CH}_4$ , sin embargo la disminución de éste podría aumentar en algunos casos la producción de  $\text{N}_2\text{O}$ . (Mosier y col., 1991). Desde finales de los 80 se ha notado una cierta contención en la producción de metano, que podría deberse a la puesta en práctica de algunas de estas técnicas (Vázquez, 1998).

Además, el hombre puede contribuir a la emisión de  $\text{CH}_4$  en las explotaciones mineras de carbón, el transporte de gas natural y los yacimientos de petróleo (IPCC, 1995). Y no sólo esto, las aguas residuales domésticas y sus procesos de tratamiento y los desechos procedentes del ganado también se pueden considerar fuentes de metano. Además, en el tracto digestivo de los rumiantes y otros animales herbívoros, e incluso los humanos, se produce el proceso de fermentación entérica, que es generadora de  $\text{CH}_4$ . En este sentido, el 94% de esta contribución se asigna a los animales domésticos, y tan sólo el 0,4% a la actividad humana. (Cruzten y col., 1986).

Además, en los vertederos de desecho que se han ido creando por la civilización, durante la actividad de compostaje, se puede generar metano como consecuencia de la descomposición anaeróbica de la materia orgánica. Aunque no todo el gas es emitido, alguno es oxidado por los suelos que cubren los vertederos (Boeckx y Van Cleemput, 1996).

Todavía no se ha mencionada la quema de biomasa, es decir los incendios de bosques donde, cuando el oxígeno existente no es suficiente, se produce una combustión incompleta que hace que se formen compuestos reducidos como el metano (Delmas, 1994 ).

En contraposición a lo expuesto anteriormente, el principal *sumidero* de metano es la propia troposfera, donde este gas es destruido por reacciones de oxidación iniciadas por los radicales hidroxilo (OH), los cuales son producidos por acción de la radiación solar ultravioleta sobre el ozono y el vapor de agua.



Es por esta actividad que el radical OH es conocido como “detergente de la atmósfera” (Cruzten, 1995). Además, parte del  $\text{CH}_4$  también puede ser mezclado en la estratosfera donde no es muy relevante su actividad como gas invernadero (Wahlen, 1993).

#### **I.5.4.- El óxido nitroso: N<sub>2</sub>O. CAS: [10024-97-2].-**

El óxido nitroso es también conocido como monóxido de dinitrógeno o “gas de la risa o hilarante”. Es incoloro y con un sabor ligeramente dulce. Su punto de ebullición está en – 88,46°C. La densidad del líquido (-80°C) es 1,226, mientras la densidad del gas es 1,53 g/L (Merck Index).

Se trata de un gas que interfiere doblemente en el deterioro de la atmósfera terrestre: por un lado contribuye al calentamiento global, pues posee propiedades de gas invernadero (Rudaz y col., 1999; Henault y col., 1998) y por otro es capaz de producir reacciones fotoquímicas involucradas en la destrucción del ozono estratosférico (Xu y col., 1998; Mosier y col., 1993). Aunque, también es verdad, que reacciona con productos de degradación de CFCs y así disminuyen su habilidad para causar destrucción de O<sub>3</sub> (Granli y Bpckman. 1994).

El óxido nitroso se encuentra solubilizado en el agua del mar. Su concentración aumenta generalmente con la profundidad y en ocasiones se encuentra en niveles de supersaturación que superan el requerido para el equilibrio con la atmósfera. Por esto se considera a los océanos como una fuente natural de aporte de N<sub>2</sub>O a la atmósfera. (IPCC, 1992; Careri y col., 1999). El suelo y los procesos microbiológicos de nitrificación y denitrificación, serán los otros responsables de la emisión que de este gas tiene lugar, sin la intervención de la actividad del ser humano (Henault y col., 1998).

Sin embargo, y como consecuencia de fuentes antropogénicas, la concentración atmosférica de N<sub>2</sub>O se ha venido incrementando de manera significativa desde los años 50 (Bowman y col., 1990 y 1993). En el presente sus valores están aumentando a razón de un 0,2 - 0,3% por año (Granli y Bpckman. 1994; Careri y col., 1999).

El 94% del total de las emisiones de N<sub>2</sub>O procede de fuentes antropogénicas, y de ellas, la agricultura es responsable en el 65-80% (Duxbury y col., 1993). El uso extensivo de fertilizantes en las actividades agrícolas, tanto si son de origen orgánico como inorgánico (Petersen, 1999), es uno de los mayores responsables en el cómputo global de N<sub>2</sub>O procedente de la actividad humana.

La quema de biomasa, como los incendios de amplias zonas de bosques tropicales (Lobert y col., 1990) y las emisiones gaseosas desde los motores de automóviles (Dasch, 1992) son consideradas fuentes menores de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$ . Lo mismo sucede con las producciones industriales de ácido nítrico, que será utilizado como fertilizante, y de ácido adipídico, necesario para la producción de nylon, plastificantes y otros productos químicos industriales (IPCC, 1992).

Es un gas corrientemente usado como anestésico, tanto sólo como en combinación con otros. Sus posibles propiedades tóxicas sobre personas expuestas ocupacionalmente a este gas en el lugar de trabajo, han llevado al Instituto Nacional Americano de Salud y Seguridad Ocupacional a establecer valores límites de utilización, así como un tiempo máximo de exposición (Poli y col., 1999; New Jersey Department of Health and Senior Services). Sin embargo su aporte a la atmósfera como consecuencia de su utilización médica es despreciable (Sherman y Cullen, 1988).

El  $\text{N}_2\text{O}$  presente en la atmósfera, es susceptible de reaccionar con los átomos excitados de oxígenos que proceden de la fotólisis del ozono:



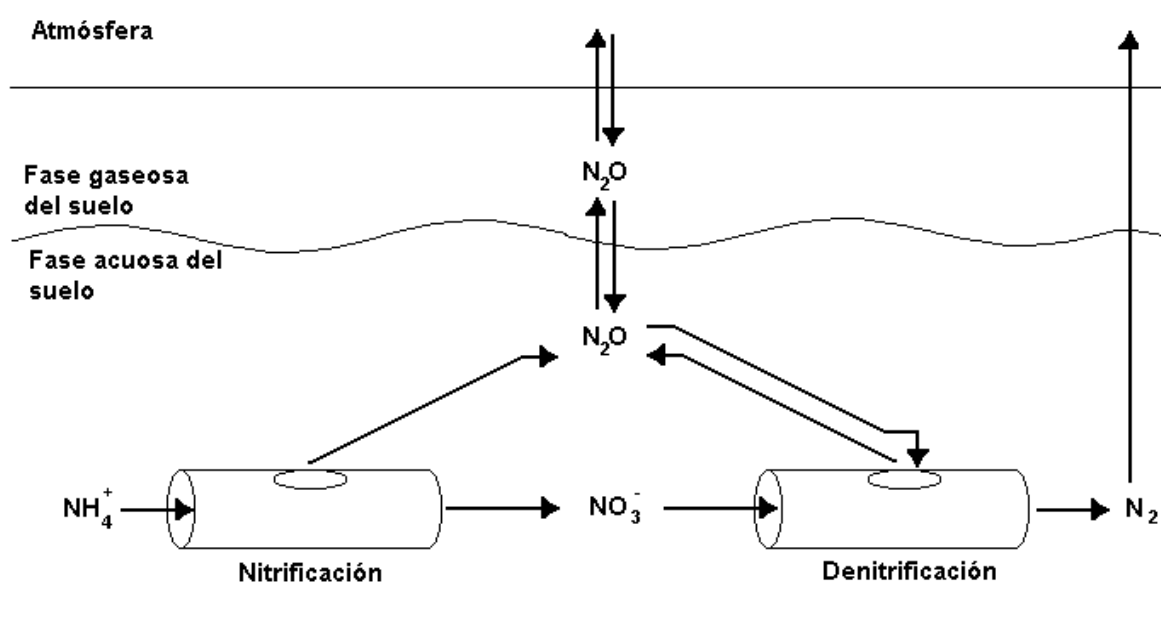
El NO a su vez participa activamente en las reacciones de destrucción del ozono. Esta reacción junto a otras dos que se producen en la estratosfera, contribuyen a eliminar el  $\text{N}_2\text{O}$  de la atmósfera, por tanto se consideran el principal sumidero de este gas (Granli y Bpckman, 1994).



Pero además, existen evidencias de que parte del óxido nitroso puede ser consumido por el suelo (Van Cleemput, 1998, Carnol e Ineson, 1999). Por tanto, el suelo podría ser considerado también un sumidero para el  $\text{N}_2\text{O}$  atmosférico, capaz de reducirlo, mediante procesos microbiológicos presumiblemente por actividad de bacterias de desnitrificación, a la forma  $\text{N}_2$ . Parece que esta reacción sería promovida por condiciones anaeróbicas y la presencia de sustancias orgánicas, y sin embargo sería retardada por la presencia de nitratos. (Bremner, 1997).

Lo que resulta evidente es que el suelo, ya sea en su estado natural o después de ser trabajado por el hombre con fines agrícolas, forma parte activa del procedimiento por el que se viene acumulando  $\text{N}_2\text{O}$  en la atmósfera. Así, parece que puede contribuir a que la concentración de este gas aumente o incluso, captar parte de él y hacer que disminuya.

La mayor parte del óxido nitroso emitido por el suelo es producido por dos procesos biológicos denominados nitrificación y desnitrificación. El tratamiento de los suelos con fertilizantes supone un aporte adicional de nitrógeno que favorecerá estos procesos (Minami, 1997, Bouwman, 1990).



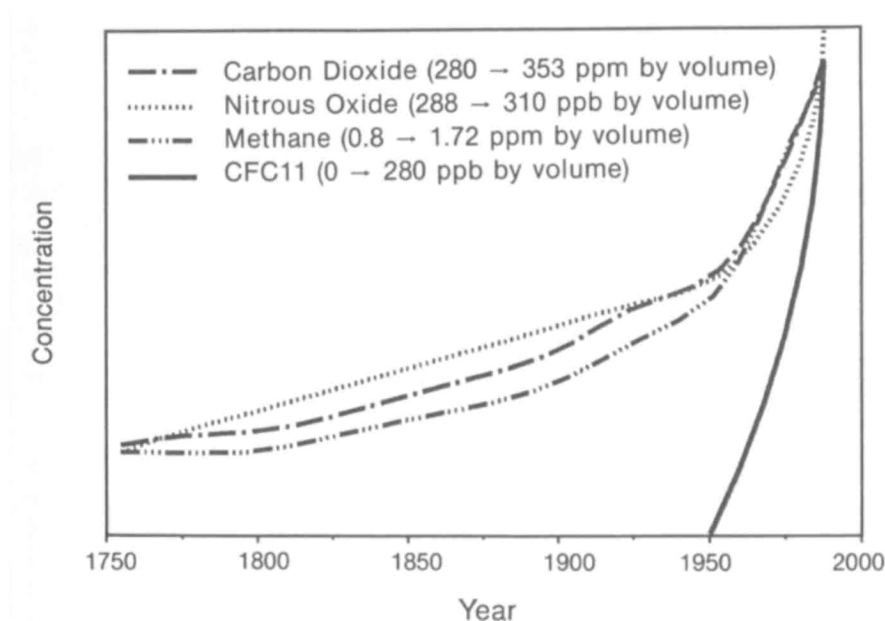
**Figura I7: El suelo como posible fuente y sumidero de  $\text{N}_2\text{O}$ . Interacción entre la atmósfera y los procesos de nitrificación y desnitrificación del suelo. Davison, 1991.**

Además, una pequeña parte de  $\text{N}_2\text{O}$  puede ser producida por un proceso no biológico conocido como quimiodesnitrificación. Ésta tiene lugar cuando, durante el transcurso de la nitrificación, se produce una acumulación de nitritos que en vez de seguir oxidándose a nitratos se transforman en  $\text{N}_2\text{O}$ . También es posible, que se forme óxido nitroso a partir de hidroxilamina producida por nitrificación o nitrato-reducción de microorganismos (Bremner, 1997).

A mayores de lo expuesto, y durante el transcurso de la desnitrificación, puede ocurrir que la actividad de las bacterias adecuadas hagan actuar al suelo como sumidero del  $\text{N}_2\text{O}$ .

### I.5.5.- Clorofluorocarbonos.-

Los clorofluorocarbonos son compuestos de carbono cloro-fluorados, también conocidos como freones. Fueron descubiertos en los años treinta y durante mucho tiempo fueron considerados como una gran ventaja para la industria y la civilización humana en general, por considerarse gases no tóxicos, no inflamables y que se licuaban sin dificultad bajo presión. Estas propiedades les llevaron a ser utilizados con profusión en los sprays, embalaje (“espuma”) de equipamiento electrónico y como refrigerante (Hidore, 1996).



**Figura I8: Incrementos del CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O y CFC11 desde 1750. Los datos anteriores a los años 50 fueron obtenidos a partir del análisis de las burbujas de gas atrapadas en el hielo de la Antártida. (IPCC, 1990).**

Poco a poco se fue evidenciando que tenían también otra propiedad: eran responsables de la destrucción de la capa de ozono que se encuentra en la estratosfera y de la formación del conocido agujero de ozono en la Antártida. La importancia del O<sub>3</sub> para nuestra vida radica en que es el principal responsable de la absorción de la radiación ultravioleta en la región entre 200 y 300 nm, que tiene un mayor potencial de influencia en los seres vivos debido a su capacidad disociadora sobre las moléculas que constituyen las proteínas. (Vázquez, 1998, Horel y Geisler, 1997).

La reducción de ozono se debe en último término a la propia radiación ultravioleta, la cual, rompe las moléculas de CFC's liberando átomos de cloro que reaccionarán con el ozono transformándolo en oxígeno molecular y atómico (Horel y Geisler, 1997, Turekian, 1996).

Además, los CFC's son poderosos agentes que intensifican el efecto invernadero ([www.conam.gob.pe](http://www.conam.gob.pe)). Incluso, los sustitutos propuestos de los CFC's, sustancias como los hidrocorurofluorocarbonos (HCFC's) y los hidrofluorocarbonos (HFC's), poseen una menor influencia sobre la destrucción del ozono (al no contener cloro), pero sin embargo poseen también una gran capacidad potencial de actuar como gases invernadero (Vázquez, 1998).

### **I.5.6.- El ozono: O<sub>3</sub>. CAS: [10028-15-6].-**

El ozono es una forma de oxígeno que contiene tres átomos, en lugar de dos como es habitual. Es incoloro e inodoro excepto a elevadas concentraciones, a las que llega a ser irritante para las vías respiratorias (Hidore, 1996).

Ya se ha mencionado que es un gas que reside naturalmente en la estratosfera, impidiendo que lleguen a la superficie de la tierra las radiaciones solares ultravioleta, por lo que su destrucción por actividad de los CFC's, supone un peligro para la vida. Su disminución contribuye a un enfriamiento de las capas altas de la atmósfera, es decir, un efecto contrario al efecto invernadero, aunque es evidente que no se puede considerar como algo beneficioso (Vázquez, 1998).

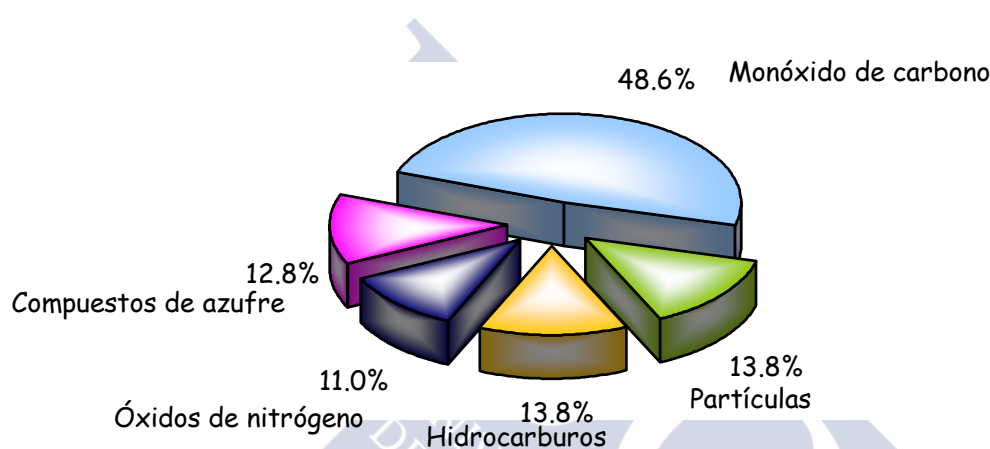
Además, el ozono existente al nivel de la troposfera se comporta como un gas invernadero. Su presencia en la parte inferior de la atmósfera se debe a la combinación de reacciones químicas de varias sustancias, la mayoría producidas por él (procesos industriales que generan monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno o metano). Aunque existe una pequeña aportación de origen natural derivada de las descargas eléctricas ([www.conam.gob.pe](http://www.conam.gob.pe)).

### **I.6.- Otros polucionantes de la atmósfera.-**

Se trata de compuestos, distintos a los gases invernadero, que se producen como consecuencia del modo de construir nuestras ciudades, de los métodos para transportar



nuestras mercancías y del modo en que se genera la energía necesaria para calentar e iluminar los lugares donde vivimos, nos divertimos y trabajamos. La causa principal de toda la polución del aire es la combustión, y ésta es esencial para el hombre. Cuando ocurre la combustión perfecta o teórica, el hidrógeno y el carbono del combustible se combinan con el oxígeno del aire para producir calor, luz, dióxido de carbono y vapor de agua. Sin embargo, las impurezas del combustible, una incorrecta relación entre el combustible y el aire, o temperaturas de combustión demasiado altas o demasiado bajas son causa de la formación de productos secundarios, tales como monóxido de carbono, óxidos de azufre, óxidos de nitrógeno, cenizas finas e hidrocarburos no quemados, todos ellos son polucionantes del aire (Wark y Warner, 1994).



**Figura I9: Principales contaminantes emitidos a la atmósfera por la industria americana.**  
**Fuente: "Global Environmental Change" Hidore, 1996.**

### **Monóxido de carbono: CO. CAS: [630-08-0].-**

El monóxido de carbono es un gas incoloro e inodoro. Aproximadamente un 20% de las emisiones globales de CO son obra del hombre, principalmente desde los automóviles (Hidore, 1996). No parece tener efectos perjudiciales sobre la superficie de los materiales, ni tampoco produce efectos dañinos en las formas superiores de vida de las plantas en concentraciones inferiores a 100 ppm. Sin embargo existen muchos estudios que demuestran que las altas concentraciones de CO pueden causar cambios fisiológicos y patológicos sobre la salud humana, y, finalmente la muerte. Se trata de un veneno que inhalado priva a los tejidos del cuerpo del oxígeno necesario, ya que la afinidad del CO para combinarse con la hemoglobina es 210 veces superior a la del oxígeno. Su tiempo máximo de residencia en la atmósfera son varios días.

**Dióxido de azufre: SO<sub>2</sub>. CAS: [7446-09-5].-**

El dióxido de azufre es un gas incoloro, no inflamable y no explosivo que produce una sensación gustatoria a concentraciones de 0.3 a 1.0 ppm (en volumen) en el aire. A concentraciones mayores de 3.0 ppm (en volumen), el gas tiene un olor acre e irritable. Se convierte parcialmente a trióxido de azufre o ácido sulfúrico y a sus correspondientes sales, juntos producen los efectos más perjudiciales atribuidos a la contaminación atmosférica del aire: son responsables de la disminución del rango visual (las mezclas de olefinas, NO<sub>2</sub> y SO<sub>2</sub>, irradiadas por la luz solar, sufren complejas reacciones fotoquímicas cuyo producto son las gotitas de niebla de ácido sulfúrico que dispersan la luz), de daños importantes ocasionados a los materiales, y de diversos efectos sobre la salud humana (trastornos respiratorios importantes, y enfermedades pulmonares), además pueden ser transformados en ácidos al ser absorbidos por el agua de las nubes y las gotas de lluvia y dar lugar a lo que se conoce como “*lluvia ácida*” y sus efectos devastadores sobre la vida de los peces, rocas, vegetación, o sobre los nutrientes del suelo, sobre los cuales tiene lugar una lixiviación o desmineralización que puede llegar a una pérdida de productividad de las cosechas y los bosques, o un cambio en la vegetación natural (Wark y Warner, 1994; Turekian, 1996). Sin embargo, en relación al efecto invernadero, el SO<sub>2</sub> contribuye a reflejar la radiación solar y por tanto contrarresta el calentamiento global. Su tiempo máximo de residencia en la atmósfera son 10 días.

**Sulfuro de hidrógeno: H<sub>2</sub>S. CAS: [7783-06-4].-**

El sulfuro de hidrógeno es otro compuesto de azufre que se encuentra en la atmósfera. Se forma a partir de la descomposición orgánica cuando el oxígeno presente no es suficiente para que se produzca la oxidación total de la materia orgánica. La principal fuente del H<sub>2</sub>S son los pantanos y las marismas. Su olor es muy desagradable (a huevos podridos) pero afortunadamente posee un corto tiempo de residencia en la atmósfera. Se le atribuye el oscurecimiento de las pinturas de las casas basadas en aceite y es responsable de la pérdida de brillo de cobre y plata (Hidore, 1996).

## **Óxidos de nitrógeno: NO [10102-43-9] y NO<sub>2</sub> [10102-44-0].-**

De los óxidos de nitrógeno, el NO y el NO<sub>2</sub> son importantes contaminantes del aire. Ninguno de ellos causa daños directos a los materiales; sin embargo, el NO<sub>2</sub> puede reaccionar con la humedad existente en la atmósfera y formar ácido nítrico que puede ser causa de considerable corrosión de las superficies metálicas. El dióxido de nitrógeno absorbe la luz visible y a una concentración de 0.25 ppm (en volumen) causará apreciable reducción de la visibilidad, además produce trastornos en el crecimiento de plantas, actúa como un fuerte irritante y está potencialmente relacionado con la fibrosis muscular crónica. Los óxidos de nitrógeno reaccionan con la luz solar y forman el neblumo fotoquímico (Wark y Warner, 1994). Además el NO<sub>2</sub> es uno de los principales contribuyentes a la lluvia ácida. Se forman como consecuencia de combustiones a altas temperaturas, principalmente en la industria del automóvil (Hidore, 1996).

## **I.7.- Repercusiones del cambio climático.-**

Una gran parte de la comunidad científica coincide en que el calentamiento global debido al efecto de los gases invernadero, podría incrementar la temperatura de la tierra de 2-5°C durante los próximos 50-100 años (IPCC, 1992; Harte y col. 1995).

Del mismo modo en que es muy difícil predecir el clima de la Tierra por ser imprescindible tener en cuenta multitud de factores (lluvia, luz solar, vientos, temperatura...), definir exactamente las consecuencias de un cambio climático global es también una tarea complicada (www.conicyt.cl).

### **I.7.1.- INCREMENTO DEL NIVEL DEL MAR:**

Ha sido uno de los aspectos más discutido. En principio puede tener dos orígenes: el deshielo de los casquetes polares a causa del incremento de temperaturas y la expansión térmica de las masas oceánicas. (Vázquez, 1998). La relación entre la temperatura y el nivel del mar depende además de factores que actúan de manera diferente en función de las escalas

de tiempo, es decir, se ven influidos fuertemente por el tiempo que se tarde en aumentar un cierto valor la temperatura (Manabe and Stouffer, 1994; Wigley y Raper, 1995). Estudios organizados por el IPCC 2000, demuestran que en escenarios donde se pueden sufrir un calentamiento de 2°C durante el período 1990-2000, éste está asociado con un aumento de nivel de las masas oceánicas de 50 cm.

#### **I.7.2.- ECOSISTEMAS MARINOS Y COSTEROS:**

Es evidente que el calentamiento de las masas oceánicas unido al incremento del nivel del mar, afectará a estos ecosistemas en su totalidad: arrecifes de coral (Lough, 1999; Done, 1999), masas de plancton, poblaciones de peces y pájaros, incluso a las especies de pingüinos que sobreviven sobre los mares helados. (IPCC, 2000). Por un lado, peligra la abundancia y diversidad de especies marinas (Holbrook y col., 1997; Smith y Kaufmann, 1999) y los límites comerciales establecidos para el desarrollo de la actividad pesquera se verán afectados pues las especies marinas que se capturaban en ciertas zonas ya no existen porque el aumento de las temperaturas del mar las hizo emigrar a otros sectores. De la misma forma, los ecosistemas costeros se verán afectados, tanto en la distribución espacial como en la abundancia y diversidad de las especies que habitan en el litoral (Fraser y col., 1992; Sagarin y col., 1999).

#### **I.7.3.- MODIFICACIONES EN EL CICLO HIDROLÓGICO:**

El cambio climático inducido por la actividad antropogénica influye de manera evidente en la recesión de glaciares (Rignot, 1998), superficies de mar helado y cubiertas de nieve. Además, el aumento de evaporación en las zonas secas favorecerá la desertización, mientras en las zonas húmedas, la evaporación de grandes masas de agua (lagos...) provocará fuertes lluvias con riesgo de inundaciones (IPCC, 2000; Schindler y col. 1990).

#### **I.7.4.- MODIFICACIONES EN LOS ECOSISTEMAS TERRESTRES:**

**I.7.4.1.- VEGETACIÓN.-** Muchas de las evidencias en cambios de la vegetación, se sitúan en lugares de altas latitudes y altas altitudes. El incremento de temperaturas en regiones montañosas parece ser causante del crecimiento de especies de plantas (Grabherr y col., 1994). De manera similar se favorece el crecimiento de bosques en las zonas de latitudes

altas, asociada a un aumento de la actividad fotosintética (Chapin, 1995; Mineny y col. 1997). Mientras, en las zonas tropicales, se pone en peligro la existencia de los bosques y la biodiversidad de las especies se ve amenazada en todo el planeta (IPCC, 2000).

I.7.4.2.- FAUNA.- Los cambios en la fauna terrestre se traducen en modificaciones en su distribución espacial (especies de mariposas y pájaros, ya se han visto afectados durante el transcurso de la última mitad de siglo como evidencian los estudios realizados por (Parmesan y col. ,1999 y Thomas y Lennon, 1999), amenazan la abundancia y diversidad de especies (Pounds y col., 1997), modifican su período de reproducción (Visser y col., 1998) y en último caso, fuerzan una rápida respuesta de adaptación a costa de cambios genéticos y fisiológicos (Rodríguez-Trelles y Rodríguez, 1998).

I.7.4.3.- SUELOS.- Como ya se ha comentado, el suelo juega un papel activo dentro del efecto invernadero pues es posible que se comporte como fuente y/o sumidero de algunos gases responsables del calentamiento global como son CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O (Bowden y col. 1998). Un incremento de temperatura podría alterar las tasas e incluso invertir los procesos de emisión o secuestro de los mismos (Christensen y col. 1999a; De Visscher y col., 1999), Goodroad y Keeney, 1984, Sitaula y Bakken, 1993). Los procesos edáficos pueden verse acelerados, especialmente los procesos biológicos (Leirós y col., 1999), pero además, se podría aumentar la evaporación alterando el balance hídrico del suelo e incluso se podrían producir efectos sobre la cobertura edáfica mediante cambios físico-químicos, entre los cuales el aumento de las tasas de descomposición de la materia orgánica intervendría en los flujos de gases con efecto invernadero. Las interacciones de la dinámica del suelo sobre el cambio climático y el cambio climático sobre el suelo, son fenómenos sinérgicos y difíciles de aislar individualmente en la secuencia temporal (Scharpenseel y Pfeiffer, 1998).

La génesis del suelo se lleva a cabo durante miles de años, por ello no se espera que cambios de este tipo puedan ser evidentes pues se trata de procesos muy lentos. Sin embargo, algunas propiedades del suelo se pueden ver afectadas a consecuencia del cambio climático. En algunas áreas estos efectos podrían ser positivos y en otras negativos. Las pérdidas de carbono orgánico pueden tener su principal efecto sobre la agregación y aumento de la fertilidad del suelo, pero además alteran su estructura, erosionabilidad, velocidad de infiltración, salinidad y el ciclo de los nutrientes de las plantas (Kimble y col., 1998; Pregitzer, 1993).

#### **I.7.5.- REPERCUSIONES EN LA SALUD HUMANA:**

El impacto negativo que el cambio climático global tiene sobre la salud humana, prevalece sobre el positivo. Si bien un incremento de la temperatura disminuiría las muertes en las estaciones frías, también es verdad que las olas de calor serían responsables de un aumento en la mortalidad y morbilidad asociadas al estrés térmico y que se manifestarían mayoritariamente en grupos de edad avanzada y en países en vías de desarrollo (IPCC, 2000). Además, existen evidencias de cambios en la salud y enfermedades humanas, en parte debidos a una distribución diferente en los agentes causantes de las mismas. Se han estudiado los posibles aumentos de mortalidad por incidencia de enfermedades como la malaria (Loevinsohn, 1994), el cólera (Epstein, 1993; Colwell, 1996) y su relación con un cambio climático y medioambiental. Se puede concluir que el incremento de temperatura y sus repercusiones sobre los ecosistemas tendrán en general efectos adversos sobre la salud: nutricionales, infecciosos e incluso psicológicos.

#### **I.7.6.- REPERCUSIONES SOCIALES Y ECONÓMICAS:**

Todas las modificaciones relatadas hasta el momento y que tienen su origen en el cambio climático inducido por la actividad humana, estarán asociadas a repercusiones sociales y económicas que afectarán al desarrollo de la civilización.

Así, el aumento del nivel del mar, afectará a las poblaciones que ocupan bajos niveles de altitud y que corren peligro de inundaciones (valgan como ejemplos Holanda y Bangladesh). Las líneas costeras y las islas verán reducidas las zonas de playas, reduciéndose a delgadas franjas de arena con la consiguiente repercusión en su economía turística (IPCC, 2000).

Los recursos hidrológicos se verán alterados, y se produciría una pérdida de producción de energía eléctrica por evaporación de embalses, originando problemas en el suministro de agua y limitando las posibilidades de riego (Loaiciga y col., 1998). Además, el incremento de temperatura se asocia a una disminución en la calidad del agua, pues aumenta el riesgo de presencia de agentes contaminantes (IPCC, 2000).

La agricultura y ganadería son sectores que se verán potencialmente afectados. Parece que en las zonas de latitudes altas las estaciones de crecimiento se aumentan, pero también favorece la expansión de plagas y pestes (Parry y col., 1999; IPCC, 2000). Ambos sectores

habrán de adaptarse al impacto que supone el aumento de la temperatura estacional y la alteración en el régimen de lluvias, para lograr el mayor beneficio económico posible. (Matthews y col., 1997; Carter y col., 1996; Hahn y Morgan, 1999). Cultivos como el de los cereales se verán seriamente afectados como consecuencia del cambio (Brignall y Rounsevell, 1995).

En general todas actividades humanas se verán afectadas por el cambio de una manera u otra: la industria, los sistemas de transporte, las demandas de energía, la infraestructura... son susceptibles de sufrir las consecuencias de un aumento de temperatura del que el mismo hombre es responsable (IPCC, 2000).

## **I.8.- Actitudes internacionales ante el futuro.-**

El Panel Internacional sobre el Cambio Climático (IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change) fue fundado en 1988 bajo los auspicios de la Organización Meteorológica Mundial y el Programa de Medio Ambiente de las Naciones Unidas con una doble finalidad. Por un lado evalúa la información científica disponible sobre el cambio climático y por otro evaluar los impactos socioeconómicos y ambientales de dicho cambio (Weenink, 1993; Harte y col., 1995).

Otros ejemplos de la preocupación de los gobiernos a cerca de este tema y de las acciones internacionales que al respecto han de acordarse, son la Cumbre de la Tierra que tuvo lugar en Río de Janeiro en 1992, la Primera Conferencia de las Partes en Berlín en 1995, que se repitió un año más tarde en Ginebra o la Reunión de Kioto que se celebró en 1997.

Siguen existiendo incertidumbres al respecto, debidas a la complejidad de propio sistema climático, a los problemas de escala tanto espacial como temporal, a la brevedad del registro instrumental o a la dificultad para desarrollar problemas de evolución. (Vázquez, 1998)

Todavía hoy en día las predicciones meteorológicas a partir de los tres días no son del todo fiables, así que parece una tarea difícil pronosticar lo que ocurrirá durante el próximo



siglo (Wiin-Nielsen, 1999). El sistema climático es altamente sensible a las variaciones. Un antiguo estudioso llegó a definir la complejidad de este sistema como el “efecto mariposa”, argumentando que el movimiento de las alas de una mariposa en Japón podría llegar a provocar un ciclón en la costa atlántica de los Estados Unidos.

Es un hecho probado que el clima cambia aunque lo ha hecho a lo largo de toda la historia y crisis climáticas más intensas que la actual que se han ido resolviendo sin problemas. Sin embargo, nunca antes la actividad humana fue responsable de dichos cambios y por tanto, se desconoce si ante la rapidez con que ahora se suceden la naturaleza será capaz de lograr el equilibrio.

Es necesario llevar a cabo nuevos estudios en búsqueda de soluciones a este problema que afecta a todo nuestro planeta: investigación de nuevas fuentes de energía que no contribuyan a la emisión de gases invernadero, nuevos métodos analíticos de control que garanticen el conocimiento exacto de la cantidad de gases invernadero emitidos, la posibilidad de nuevos sumideros de estos gases o mecanismos que contrarresten el calentamiento global... Pero además, es muy importante llegar a conocer como se comportarían los ecosistemas terrestres en caso de un aumento de la temperatura global, pues serviría de gran ayuda en la toma de decisiones acertadas con vistas al futuro de nuestro planeta.

Es precisamente en esta línea en la que se ha trabajado en esta memoria, que forma parte del proyecto: “Influencia del cambio climático global sobre los ciclos del Carbono, Nitrógeno y Azufre del suelo, y su repercusión en la emisión de Gases Invernadero”, perteneciente al Programa Nacional de I+D SOBRE EL CLIMA con número de referencia CLI 96/1166, en el que el investigador responsable y coordinador es el Dr. D. Fernando Gil Sotres.



## **II.- OBJETIVOS.-**

## **II.- Objetivos del trabajo.-**

En esta memoria se pretende:

Poner a punto de un método analítico que permita la determinación de componentes gaseosos tipo invernadero. Son el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ) y óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), los gases que contribuyen mayoritariamente al calentamiento global, son por tanto, en este sentido, los más importantes a tener en cuenta para el diseño del método. Sin olvidar que existen otros contaminantes atmosféricos ( $\text{SH}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_2$ ...) que no poseen propiedades de gases invernadero, pero que contribuyen a alterar el estado natural de la atmósfera terrestre.

Diseñar y poner en práctica experiencias de laboratorio que permitan construir modelos con el fin de simular la emisión de gases invernadero a partir de suelos de diferente contenido en materia orgánica, y variando los parámetros temperatura y humedad. Conocidos los niveles de estos compuestos en las distintas condiciones, se pretende compararlos con experiencias de campo y estudiar al fin su relación con el Efecto Invernadero y el Cambio Climático Global.

Será necesario diseñar una metodología adecuada para la toma de muestras de gases de este tipo, que hayan sido desprendidos por suelos procedentes de distintos lugares. Así como un sistema apropiado que haga factible el transporte desde el lugar de recogida al laboratorio donde se procederá a su determinación analítica.

Se llevarán a cabo experiencias de campo diseñadas de tal manera que, por un lado, permitan la validación tanto del método analítico como de los diseños de muestreo y transporte, y por otro, hagan factible el estudio de las emisiones de estos gases a partir de suelos con distinta situación geográfica, así como la influencia que un posible cambio climático tendría sobre dichas emisiones.



### **III.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.-**

### **III.- Antecedentes bibliográficos.-**

En la literatura revisada se han encontrado numerosos trabajos de optimización de métodos cromatográficos para la detección de gases tipo invernadero. Distintos tipos de detectores, columnas cromatográficas, sistemas de inyección... son utilizados por sus autores. Es importante el sistema de toma de muestra, puesto que el análisis de sustancias gaseosas es complicado en cuanto a su recogida y transporte. Los distintos autores se han servido de distintos mecanismos en este sentido, mientras unos utilizan las técnicas de espacio de cabeza (“Head Space”), “purge-trap”, jeringas herméticas, dilución por transformación de la especie química.

Se han clasificado en dos grupos las citas bibliográficas revisadas, teniendo en cuenta el tema fundamental objeto de estudio. Así se distinguen:

1. Estudios no relacionados con procesos del suelo.
2. Estudios relacionados con procesos del suelo.

### **III.1.- Estudios no relacionados con procesos del suelo.-**

El análisis de los gases permanentes de que trata este trabajo, tiene una aplicación que va más allá del campo medioambiental, abarcando también el clínico, farmacéutico o el análisis alimentario (Poli y col., 1999). Podríamos clasificar la bibliografía revisada teniendo en cuenta el campo al cual sería aplicado el método analítico desarrollado, así podríamos diferenciar principalmente:

- ≈ Análisis en aire o atmósfera (refiriéndonos no sólo a atmósfera terrestre, sino atmósfera urbana, atmósfera en el trabajo evitando riesgos laborales debidos a gases tóxicos...).
- ✈ Análisis en carburantes (gas natural, gasolina, derivados del petróleo, emisiones de vehículos...).
- 🕒 Análisis en productos alimentarios (bebidas alcohólicas, sobre todo SO<sub>2</sub> y SH<sub>2</sub> en cerveza, vinos...)
- ✚ Análisis en muestras biológicas (medidas de CO y CO<sub>2</sub> en sangre, análisis de anestésicos (N<sub>2</sub>O) en orina, medidas de intoxicaciones...).

Sin embargo, y teniendo en cuenta que la literatura revisada ha contribuido en la optimización del método analítico, a continuación se hace un breve recuento agrupando los distintos trabajos en base al sistema de detección utilizado.

#### **III.1.1.- Determinación mediante CROMATOGRAFÍA DE GASES y detector de ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC/MS):**

- ≈ Talasek y col. (1992) determinan SO<sub>2</sub>, NO, NO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O en el aire, por cromatografía de gases y detector de masas con fuente de impacto electrónico. Utilizan un “loop” o bucle de inyección de 0,2 ml y dos columnas diferentes, PoraPLOT Q y U, siendo la última la elegida para el SO<sub>2</sub> y NO<sub>2</sub>, mientras la PoraPLOT Q es más apropiada para los otros óxidos de nitrógeno. Entre el bucle y la columna es conectado un sistema de

atrapamiento por frío “cryotrap”. Obtienen los patrones de calibración con un sistema especial de dilución de aire.

- ≈ **Eisele y col. (1992)** también utilizan GC/MS aunque con fuente de ionización química (APCI) y con distintas columnas de relleno (no capilares) para determinar, entre otros compuestos,  $\text{SO}_2$  que antes es derivatizado a  $\text{SO}_5^-$  en fase gaseosa por adición de ozono. Compara las concentraciones registradas con las de un monitor termoelectrónico de fluorescencia de  $\text{SO}_2$ .
- ≈ **Bandy y col. (1992)** y **Blomquist y col. (1993)** demuestran que el dióxido de azufre y el dimetil sulfóxido pueden ser determinados por GC/MS desde muestras recogidas de la atmósfera, mediante técnicas de dilución de isótopos, es decir, utilizando estándar interno marcado isotópicamente (GC/MS/ILS). Destacan como ventajas de la técnica, su sensibilidad y el que no sea necesario disponer de varios espectrómetros de masas en caso de querer llevar a cabo simultáneas tomas de muestras en lugares geográficamente distantes.
- ≈ **Marchand y col. (1994)** mediante separación en una columna capilar DB 624, y acoplamiento de la técnica de “purge y trap” a GC/MS, analizan compuestos volátiles orgánicos ( $\text{SO}_2$ ,  $\text{SH}_2$  y  $\text{CH}_4$  entre otros) en muestras de agua, sedimentos y depósitos hidrotermales.
- ① **Fujimori y col. (1995)** determinan  $\text{SO}_2$  en vinagres de distintos tipos, utilizando la cromatografía gaseosa y la espectrometría de masas (MS) y el FID como sistemas de detección.
- ≈ **Aflalaye y col. (1997)** comparan la eficacia, resolución y límites de detección de la utilización de dos columnas capilares con distinta porosidad (rellenas de carbón para tamiz molecular) para la determinación de gases permanentes en atmósfera de Titanio mediante cromatografía de gases con espectrómetro de masas como sistema de detección.
- ≈ **Lauf y col. (1998)** desarrollan un método “on-line” para determinar los isótopos estables de N en amoníaco y óxidos de nitrógeno, así como su abundancia en niveles



naturales. Para ello los gases serán atrapados químicamente como sales desde un volumen específico de aire, estas sales (separadas gas-cromatográficamente) son convertidas a  $N_2$  y analizadas de esta manera por un espectrómetro de masas de radioisótopos que determinará la razón  $^{15}N/^{14}N$ .

≈ **Navale y col. (1998)** idean un sistema de tres columnas cromatográficas acopladas a un espectrómetro de masas miniaturizado, con el fin de conseguir la separación e identificación de hidrocarburos de bajo peso molecular, así como otros compuestos, para poder estudiar la composición de ciertas atmósferas específicas.

✚ **Poli y col. (1999)** estudian la presencia de  $N_2O$  en orina humana, después de la inhalación de anestésicos. Los análisis son llevados a cabo por GC-MS utilizando una columna capilar con polímero poroso de divinilbenceno como fase estacionaria, y tras haber aplicado la técnica de microextracción en fases sólida al “headspace” de las muestras (HS-SPME). Utilizan un complicado sistema de dilución para preparar los patrones de calibración. Destacar que la desviación estándar en tanto por cien, para el mismo día, está entre 3-13%.

### **III.1.2.- Determinación mediante CROMATOGRAFÍA DE GASES y detector de TERMOCONDUCTIVIDAD (GC/TCD):**

≈ **Reid y col. (1993)** evalúan diferentes ciclodextrinas (oligosacáridos cíclicos) sobre un soporte de silicagel, como fases estacionarias (GSC) factibles para la separación de gases inorgánicos. Utilizan un sistema de enfriamiento por nitrógeno líquido y detección por Termconductividad.

✚ **Van Dam y col. (1994)** analizan la composición de CO en sangre, mediante espacio de cabeza estático y cromatografía de gases con detector micro-TCD y columna capilar de sílica fundida del tipo PLOT.

➔ **Yung y col. (1995a)** preparan columnas rellenas de una capa de carbon activo cuya aplicación será la separación de gases permanentes ( $CO$ ,  $CO_2$ ...) e hidrocarburos de bajo peso molecular utilizando como sistema de detección un micro-TCD. La

capacidad de resolución de estas columnas es comparada con las disponibles comercialmente que consisten también un tamiz molecular de carbon activo (PLOT).

- ≈ **Zheivot (1996)** compara distintas columnas cromatográficas de relleno para la detección de SO<sub>2</sub> en aire, utilizando un detector de termoconductividad (TCD).
- **Demczak y col. (1997)** utilizan gas cromatografía con detección de termoconductividad para el análisis de metano, nitrógeno y dióxido de carbono en gas natural, una de las más importantes fuentes de energía.
- **Schild y col. (1997)** desarrollan un método de análisis gas-cromatográfico para la medida de las emisiones de los vehículos. Determinan CO y CO<sub>2</sub>, entre otros gases emitidos, utilizando dos columnas cromatográficas colocadas en serie y un detector TCD.
- ≈ **Stan'kov y col. (1999)** desarrollan un procedimiento para la determinación de SO<sub>2</sub> (entre otros gases), basándose en la técnica de espacio de cabeza, que inyecta directamente en una columna capilar muestras gaseosas que serán analizadas por cromatografía gas-líquido utilizando TCD como sistema de detección.

### **III.1.3.- Determinación mediante CROMATOGRAFÍA DE GASES y detector de IONIZACIÓN de LLAMA (GC/FID):**

- ≈ **Castello y col. (1990)** consiguen la determinación analítica de hidrocarburos de bajo peso molecular y compuestos azufrados, mediante cromatografía gaseosa, utilizando columnas de relleno y detectores de ionización de llama(FID: Flame Ionization Detector) y fotométrico de llama (FPD: Flame Photometric Detector).
- ≈ **Denha y col. (1994)** desarrollan un procedimiento simplificado de gas-cromatografía con detector FID, para la determinación de hidrocarburos (desde C<sub>1</sub> a C<sub>7</sub>) en atmósfera urbana. El metano será determinado por inyección directa de 1 cm<sup>3</sup> de muestras de aire (urbano y de laboratorio), mediante la utilización de una jeringa hermética.

- **Yung y col. (1995b)** describen un método de preparación de columnas con una capa porosa de sílica, utilizando capilares de sílica fundida, y que serán factibles para la separación de compuestos aromáticos e hidrocarburos aromáticos de bajo peso molecular mediante GC-FID.
  
- ≈ **Lin (1996)** desarrolla un método gas-cromatográfico para la determinación simultánea de CO y CO<sub>2</sub> en aire. Las muestras son separadas por una columna TDX-01 y calentadas a 340 °C con el fin de reducir, mediante H<sub>2</sub> en presencia de Ni, el CO y CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> que será determinado con un detector FID.
  
- **Kulagina y col. (1998)** estudian distintas modificaciones sobre el carbón activo de columnas de relleno, con el fin de lograr unas mejores condiciones de separación GC-FID para la mezcla de hidrocarburos C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

#### **III.1.4.- Determinación mediante CROMATOGRAFÍA DE GASES y detectores de TERMOCONDUCTIVIDAD e IONIZACIÓN de LLAMA (GC/TCD/FID):**

- **Reis Alves y col. (1994)** proponen un método gas-cromatográfico para analizar la composición del gas natural, utilizando para la separación de componentes (CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> entre otros), un sistema complejo de varias columnas capilares y sistemas de termconductividad (TCD) e ionización de llama (FID) para la detección.
  
- **Rubey y col. (1995)** analizan gases disueltos en carburante mediante un complejo sistema que combina los detectores de termconductividad (TCD) e ionización de llama (FID) y diferentes tipos de columnas cromatográficas.
  
- **Armstrong y col. (1994)** comparan los resultados de los análisis de las emisiones de tubo de escape de automóvil realizados por un analizador comercial de emisiones (“snifer”, dotado de un detector de infrarrojo –IR: destinado a los óxidos de carbono- y un FID -para los hidrocarburos-) y aquellos análisis realizador por GC-FID/TCD, con confirmación por GC-MS.

### III.1.5.- Determinación mediante CROMATOGRAFÍA DE GASES y detector de FOTOIONIZACIÓN (GC/PID):

- ≈ **Bray y col. (1992)** utiliza para la determinación de volátiles, un detector de fotoionización (PID), con una lámpara de 11,2 eV, instalado en serie con un TCD. Utiliza una columna Poropak Q y dos programas diferentes de temperatura (uno de ellos empieza en temperaturas por debajo de 0°C). Esta técnica será aplicada a la determinación de volátiles incluidos en fluidos magmáticos. Si bien, presenta dificultades analíticas para la determinación del SH<sub>2</sub> (se producen solapamientos), y del SO<sub>2</sub> (la respuesta del PID no es lineal, y por tanto no permite la cuantificación, mientras que en el TCD el pico correspondiente es solapado con otro). Además el PID no puede cuantificar especies con energías de ionización >11,7 eV (entre otros CO, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y SO<sub>2</sub>), la respuesta de estos compuestos no es lineal, y puede ser positiva a bajas concentraciones, y negativa cuando los electrones emitidos son capturados (efecto “quenching”).
- ≈ **Hiyama y col. (1994)** desarrollan una técnica para la determinación de gases ocluidos en carburante en “pellets” (bolitas). Los gases se extraen de las muestras en condiciones de vacío, y son inyectados en el gas cromatógrafo a través de una unidad de muestreo original. Utilizan varias columnas para llevar a cabo la separación cromatográfica (con una sola no consiguen una buena resolución), y un PID como sistema de detección.
- ✈ **Bulycheva y col. (1995)** demuestran la posibilidad de determinar NO y NO<sub>2</sub> por gas-cromatografía con PID (lámpara UV 10,2 eV) y una columna de relleno macroporoso (Kuprumsorb sulfonatado con cationes en la forma Cu<sup>+2</sup>). Aplican esta técnica al análisis de las emisiones de vehículos. Conviene destacar que los límites de detección son de 1 ppm (ponderales) para el NO y 30 ppm (ponderales) para el NO<sub>2</sub>, aunque la desviación estándar en tanto por cien es de 20%.
- ✦ **Salvi y col. (1997).** desarrollan un método gas-cromatográfico para la determinación de compuestos volátiles incluidos en fluidos. Para ello utilizan una columna PoraPLOT Q, del tipo capilar “mega-bore” (DI= 0,53 mm), y comparan los resultados con los obtenidos con una columna de relleno (HaySep R). Utilizan

comparativamente, dos sistemas de detección: PID (lámpara UV de 11,7 eV) y TCD. Determinan así, N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e hidrocarburos de peso molecular más alto.

### **III.1.6.- Determinación mediante CROMATOGRAFÍA DE GASES y detector FOTOMÉTRICO DE LLAMA (GC/FPD):**

- ≈ **Haunold y col (1989)** utilizan la técnica de atrapamiento por frío en una columna de relleno seguida de una separación gas-cromatográfica en columna capilar (Carbopack BHT100) con detector fotométrico de llama, para analizar SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, y H<sub>2</sub>S entre otros compuestos volátiles.
- ① **Moreno y col. (1989)** determinan SO<sub>2</sub> en cerveza, mediante gas-cromatografía con espaciador de cabeza, columna de relleno y FPD como detector.
- ≈ **Shooter y col. (1992)** determinan gases de azufre (SO<sub>2</sub> y SH<sub>2</sub> entre otros) en aguas procedentes del océano Antártico y de los glaciares fundidos. Se utiliza como sistema de preconcentración, el atrapamiento en Tenax a temperatura ambiente, al que le seguirá una desorción por temperatura (110°C) y mediante flujo de nitrógeno (gas portador, que introducirá directamente los compuestos de azufre en la columna analítica). El análisis gas-cromatográfico se llevará a cabo con detector fotométrico de llama (FPD).
- ≈ **Souza (1993)** describe una técnica gas-cromatográfica mediante un detector de fotometría de llama específico para el azufre, comparando distintos tipos de columnas de relleno con el fin de conseguir detectar niveles pequeños de gases sulfurados sin necesidad de preconcentración. Describe además un complicado sistema usado para generar concentraciones bajas de gases “húmedos” utilizadas en la calibración. Conviene destacar que solo en una de las columnas probadas aparece el pico correspondiente al SO<sub>2</sub>, no consiguiéndose ni siquiera en este caso una buena resolución.
- ① **Mestres y col. (1997)** realizan análisis cromatográficos de compuestos volátiles de azufre en vinos (blancos y tintos) utilizando la técnica del espacio de cabeza estático,

la concentración por atrapamiento criogénico y un detector fotométrico de llama (FPD).

- ❶ **Mestres y col. (1999)** realizan análisis de compuestos de azufre en el aroma del vino, utilizando la microextracción en fase sólida con espaciador de cabeza (HS-SPME: “Headspace Solid Phase Microextraction”) como técnica previa a la gas cromatografía con columna capilar específica para los compuestos de azufre y sistema de detección FPD.
- ❧ **Bérubé y col. (1999)** realizan medidas de compuestos de azufre reducido en matrices acuosas por inyección directa en un gas cromatógrafo con un detector fotométrico de llama (FPD). Con el sistema de inyección directa, evitan el “headspace” o la “purge/trap”, y las desventajas y costes que el uso de estas técnicas conllevan.

### **III.1.7.- Determinación mediante CROMATOGRAFÍA DE GASES y detector de CAPTURA DE ELECTRONES (GC/ECD):**

- ⌘ **Upstall-goodard y col. (1996)** desarrollan una nueva técnica gas-cromatográfica semiautomática, para medir presiones parciales y concentraciones de  $N_2O$  y  $CH_4$  en muestras de aire y agua de mar. Los gases recogidos mediante la técnica de espacio de cabeza, son separados en columnas de relleno Porapak Q, seguidas de dos detectores: FID para la detección de  $CH_4$  y ECD para la detección de  $N_2O$ .
- ⌘ **Careri y col. (1999)** comparan las técnicas de “purge/and/trap” (atrapamiento y purga) y “dinamic headspace” (espacio de cabeza dinámico) para el análisis de  $N_2O$  en agua de mar, obteniendo mejores resultados para la primera de ellas combinada con cromatografía gaseosa con columna capilar de divinilbenceno y detector de captura de electrones (ECD). Destacar que la desviación estándar en tanto por cien oscila entre 6 y 8%.
- ⌘ **Kumagai y col. (1999)** desarrollan un método para determinar  $N_2O$  con el fin de poder evaluar el tiempo de exposición personal al gas. Para ello el  $N_2O$  es recogido de manera pasiva sobre un tamiz molecular encerrado en un tubo de vidrio y después será

parcialmente desorbido en un vial hasta equilibrio gas-sólido a 100°C. La concentración de nitrógeno en el aire del espacio de cabeza del vial es medida con un cromatógrafo de gases equipado con un detector de captura de electrones. (ECD).

### **III.1.8.- Determinación mediante CROMATOGRAFÍA DE GASES y OTROS DETECTORES:**

- ✚ **Ghoos y col. (1994)** desarrollan un método para la determinación de volátiles en matrices biológicas (heces y orina) mediante dos sistemas “off-line”: un sistema de preconcentración (“closed-loop trapping”) seguido de cromatografía gaseosa de alta resolución con detección por atrapamiento de iones (HRGC-ITD). Consiguen separar e identificar entre otros, SO<sub>2</sub> y SH<sub>2</sub> en muestras de heces y orina.
- ⚡ **Endecott y col. (1996)** detectan cuatro gases tóxicos (CO, SO<sub>2</sub>, SH<sub>2</sub>, HCN) en atmósferas de combustión, analizados por cromatografía de gases con MTI M200 (Microsensor Technology, Freemont, CA, USA) configurado específicamente para el análisis de gases. Se valen de dos columnas cromatográficas diferentes, una específica para el CO y la otra donde se resuelven el resto de analitos. Los límites de detección son 100, 50, 125 y 60 ppm (ponderales) respectivamente para CO, H<sub>2</sub>S, SO<sub>2</sub> y HCN.
- ⚡ **Standards Australia (1990)** describe la preparación de test de referencia para evaluar analitos gaseosos en la atmósfera (entre otros: CO, SO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, hidrocarburos y óxidos de nitrógeno). Como métodos convenientes para la detección incluye la cromatografía gaseosa y el análisis de quimioluminiscencia.
- ➔ **Tang y col. (1996)** determinan compuestos de azufre en atmósfera, gas natural y otros carburantes gaseosos mediante un sistema de cromatografía con detector de azufre por quimioluminiscencia (SCD: “Sulfur Chemiluminescence Detector”). Para las concentraciones más bajas utilizan además la técnica de atrapamiento criogénico.
- ➔ **Stumpf y col. (1998)** detallan el análisis de compuestos sulfurados en la gasolina y otros productos del petróleo, valiéndose de la cromatografía de gases capilar y la detección por emisión atómica (AED: “Atomic Emission Detection”). Las muestras



han de sufrir tratamiento químico que consistirá en reacciones selectivas de cuatro tipos diferentes.

≈ **Wang y col. (1998)** utilizan dos detectores en paralelo: un detector de quimioluminiscencia (SCD: “Sulfur Chemiluminescence Detector”) específico para los compuestos de azufre ( $\text{SO}_2$  y  $\text{SH}_2$ ) al que se accede desde una columna capilar y un TCD, al que se llegará después de la separación en una columna de relleno y que estará destinado a las especies no azufradas ( $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$  entre otras), aunque a elevadas concentraciones es capaz de detectar  $\text{SO}_2$  y  $\text{SH}_2$ .

⦿ **Rauhut y col. (1998)** desarrollan un método para la determinación de compuestos de azufre en vino (entre otros  $\text{H}_2\text{S}$  y  $\text{SO}_2$ ). El análisis es llevado a cabo mediante un inyector automático de espacio de cabeza combinado con un sistema de atrapamiento por frío en una columna Porapak Q inmediatamente después de la inyección y seguido de análisis gas-cromatográfico con columna capilar y detector de quimioluminiscencia específicos ambos para el azufre (GC-SCD).

### **III.1.9.- Determinaciones mediante CROMATOGRAFÍA IÓNICA:**

≈ **De-Santis y col. (1996)** describen la utilización de la cromatografía iónica para determinar  $\text{NO}_2$ , que previamente ha sido recogido en carbón activo alcalino y transformado en nitrito.

≈ **Talbot y col. (1997)** determinan  $\text{SO}_2$  en el aire mediante la técnica de cromatografía iónica, y destacan la simplicidad, pequeño tamaño y relativamente modesto coste del equipo requerido, así como el corto tiempo de análisis y los bajos límites de detección que se consiguen.

≈ **Komazaki y col. (1999)** desarrollan un sistema de cromatografía iónica para el análisis de gases con propiedades tanto ácidas como básicas en aire, los cuales antes han de sufrir la conveniente monitorización para transformarse en los aniones o cationes correspondientes. (p.e. el  $\text{SO}_2$  de la atmósfera es recogido en forma de

aniones sulfito y sulfato). Simultáneamente se realizan medidas de NO<sub>2</sub> y NO con un analizador de óxidos de nitrógeno por quimioluminiscencia y de SO<sub>2</sub> con un sistema UV/fluorímetro.

### **III.1.10- Determinaciones CON ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA / VISIBLE (UV/VIS):**

Existen numerosos trabajos basados en la espectrofotometría Ultravioleta/Visible, que desarrollan métodos analíticos para la determinación de gases permanentes, así, **García-Jares y col. (1995)** proponen un método para determinar el SO<sub>2</sub> libre, entre otros parámetros fisico-químicos de un vino tinto (acidez total, taninos, pH...), basándose en su espectro UV/VIS. **Baum (1997)** utiliza también la espectrofotometría ultravioleta como herramienta para el análisis de gases, como los emitidos por vehículos, que contarán entre sus componentes con NO, SO<sub>2</sub>, SH<sub>2</sub>, y otros. Además utilizan la espectrofotometría UV/VIS para la determinación de óxidos de nitrógeno o de azufre: **Pandit y col. (1992)**, **Shanthi y col. (1994)**, **Krochmal (1995)**, **Pandurangappa y col. (1996)**, **Mellqvist y Rosen (1996)**, **Frost y col. (1996)**, y **Lagesson y col. (1998)**.

### **III.1.11.- Determinación mediante ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA (IR):**

**Blecka y col. (1996)**, **Adachi y col. (1997)**, **Tanoura y col (1997)** y otros muchos autores, realizan análisis de óxidos de nitrógeno en gases utilizando como base medidas de espectroscopía infrarroja. (FTIR: Fourier transform infrared emission analyzer).

## **III.2.- Estudios relacionados con procesos del suelo.-**

### **III.2.1.- Acerca de la recogida de muestras de gases:**

La atmósfera del suelo contiene gases permanentes como nitrógeno, oxígeno, dióxido de carbono, argón, y pueden estar presentes trazas de otros gases ( $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$ ) producidos por el suelo (Magnusson, 1989). Han sido descritas distintas técnicas para el muestreo y determinación de los constituyentes gaseosos del suelo.

Un método consiste en extraer las muestras mediante un delgado tubo insertado en el suelo en la posición deseada: (Malmborg, 1982). La principal desventaja de esta técnica es la posibilidad de contaminación que se puede producir al introducirse aire envolvente a lo largo del tubo, mientras la succión está siendo realizada. Además existen complicaciones para extraer gases en ciertos casos, como cuando el suelo está cerca de la saturación de agua o es de textura muy fina.

Varios trabajos han analizado la fase acuosa del suelo y medido en ella los gases disueltos. Han utilizado células llenas de agua con una pared de membrana plástica gas-permeable que permita la difusión de gases hasta la célula. Después de alcanzarse el equilibrio, son medidos los gases disueltos en la célula de agua. (Boggie, 1977). Se trata una técnica complicada, en cuanto al muestreo y medidas.

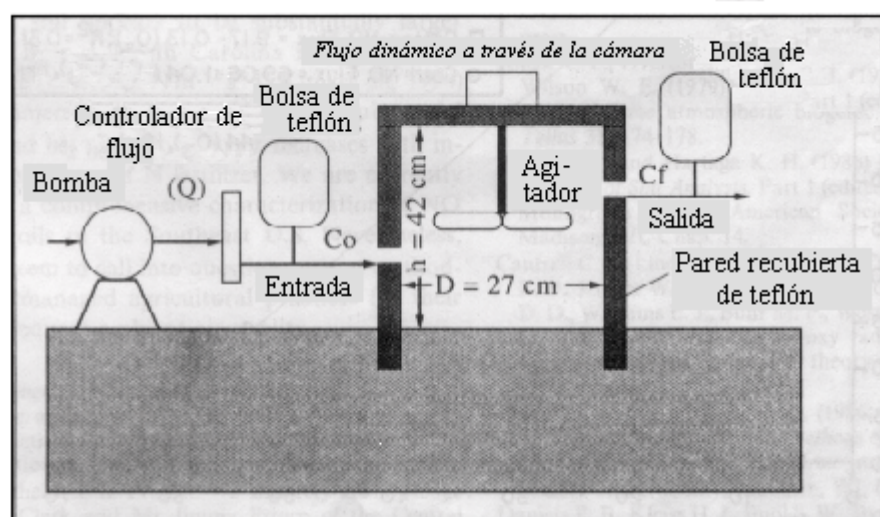
Otra posibilidad es medir la concentración de los gases en el aire del suelo a varios niveles de profundidad. (Rolston y col., 1976; Arah y col. 1991). La difusividad de cada gas es calculada respecto a la textura del suelo y el contenido de agua, y mediante la ley de Fick's se calcula la concentración. Entre las desventajas de esta técnica están el gran número de muestras que es necesario recoger, las incertidumbres sobre la difusividad del gas o la mínima resolución espacial y temporal (Sharp, 1991).

Las estaciones micrometeorológicas pueden ser otra solución. La velocidad del viento, temperatura y concentración de trazas de gases son medidas a una o varias alturas sobre el suelo (Sitaula y col., 1995, Granli y Bockman. 1994). La mayor limitación es encontrar

sensores que combinen sensibilidad, respuesta rápida continuidad de operación y bajo coste (Denmead y Raupach, 1993)

El uso de las cámaras de equilibrio (también llamadas campanas) instaladas en el suelo, es el modo de recogida de muestras más frecuentemente utilizado en las últimas épocas. Distintos autores han desarrollado modelos diferentes. En general se pueden diferenciar:

- 1) **cámaras de equilibrio dinámicas** (Moore y Roulet, 1991; Castro y Galloway, 1991; Rouse y col., 1995; Aneja y col., 1995; Fang y Moncrieff, 1996; Rochette y col., 1997 y 1999; De Visscher y col. 1999) en las que el aire es bombeado a través de la cámara con un flujo constante, en el interior de ésta suele existir un agitador conducido por un motor, que se encarga de conseguir una mezcla homogénea del aire (Figura A1).



**Figura A1: Figura del flujo dinámico a través de la Campana diseñada por Aneja y col. (1995). Las paredes y todas las superficies internas son de teflón.**

La emisión de gases desde el suelo se calcula por diferencia de concentración de aire a la salida y a la entrada de la cámara. Como ventajas posee la de reducir los efectos de acumulación de gases permitiendo medidas durante largos períodos, además de conseguir que las condiciones de dentro y fuera de las cámaras sean muy similares. Sin embargo, es un método poco sensible cuando las concentraciones de los gases desprendidos son bajas y el flujo forzado de aire puede incrementar la emisión de gases desde el suelo falseando los resultados.

- 2) **cámaras de equilibrio estáticas**, donde no es necesaria bomba de flujo. Son más baratas y fáciles de utilizar. Pueden ser a su vez de dos tipos: **selladas** o que impiden totalmente el intercambio con la atmósfera exterior (Martikainen y De Boer, 1993; Dörsch y col., 1993; Hantschel y col., 1995) o **cámaras de equilibrio estáticas ventiladas** (Hutchinson y Mosier, 1981; Dueñas y col., 1995; Carran y col., 1995, Healy y col. 1996; Mosier y col., 1997) que poseen una pequeña válvula u orificio por donde es posible la ventilación.

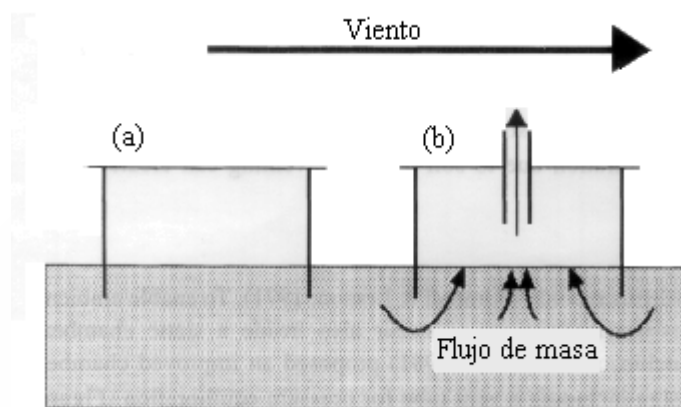


Figura A2: Corte seccional de una campana sellada (a) y una ventilada (b). Conen y Smith, 1998, evalúan las ventajas de unas frente a otras.

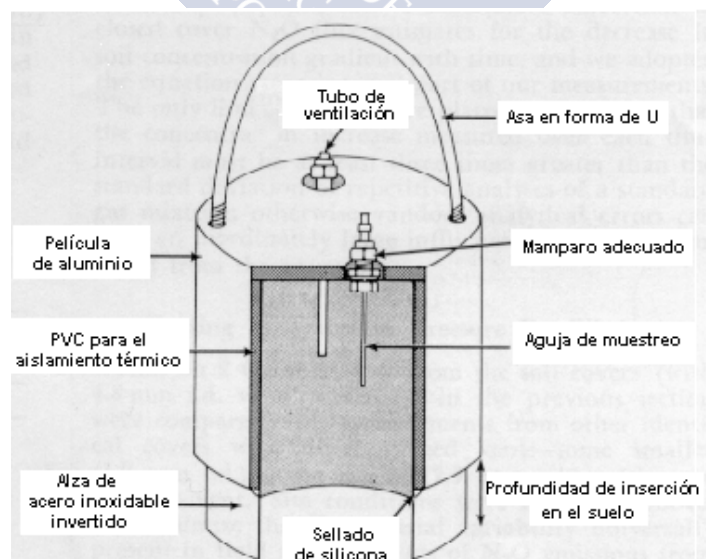


Figura A3: Campana estática con sistema de ventilación diseñada por Hutchinson y Mosier, 1981.

Las campanas selladas pueden suprimir fluctuaciones de presión causadas por las turbulencias del viento y el efecto de la concentración de gas desprendido impedirá nuevas emisiones, ambas cosas podrían llevar a una desestimación del flujo. Una pequeña ventilación podría conseguir eliminar este problema, sin inducir una mezcla significativa con el aire de fuera se trataría de conseguir un equilibrio de la presión de dentro y fuera de la cámara, aunque debido al efecto Venturi se produciría una despresurización y como consecuencia un flujo de aire enriquecido en trazas de gas desde el suelo a la cámara como indican las flechas de la figura A2.

La radiación solar causa diferencia de temperaturas entre el suelo y el aire de dentro y fuera de las campanas. Diferentes materiales han sido utilizados para solventar este problema en la mayor medida posible. PVC (Flessa y col., 1998; Rustad y Fernández, 1998), aluminio (Christensen y col., 1998 y 1999b), acero inoxidable (Van den Pol-Van Dasselaar, 1999) e incluso poliestireno de alto impacto (Paul y col., 1999) han servido para la construcción de distintos modelos. Para facilitar todavía más el manejo, las campanas constituidas por una única pieza dieron paso a aquellas que permiten la separación de lo que es la cámara de la base, siendo ésta última la que es permanentemente instalada en el suelo (Chang y col., 1998).

### **III.2.2.- Acerca del transporte de gases:**

Los distintos autores han experimentado técnicas diferentes con el fin de hacer posible el transporte de las muestras de gases desde su lugar de recogida en el campo al laboratorio donde se realizará su análisis.

Uno de los mecanismos puestos en práctica se basa en la utilización de jeringas herméticas adecuadas. Con ellas, se recoge la muestra de gases desde las cámaras instaladas en el suelo. Se tapa la salida de la aguja para que no se produzca intercambio de gases a través de ella con el exterior, generalmente mediante una goma de silicona. Finalmente, se lleva al laboratorio donde se inyecta su contenido directamente en el cromatógrafo de gases o se sigue

el procedimiento correspondiente a cada técnica. (Yamulki y col., 1998; Xu y col, 1998; Chang y col., 1998).

Otro sistema frecuentemente utilizado son los viales herméticos de vidrio donde previamente se habrá hecho vacío y en los cuales se vierte el contenido de una jeringa con la que se han extraído muestras de gas desde las cámaras instaladas en el suelo (Bowden y col., 1998; Rustad y Fernández, 1998).

Existen trabajos en los que el vial se conecta a la cámara mediante una aguja que permite el intercambio de gases, y se dejarán en este modo hasta que se considere que se haya alcanzado el equilibrio y la concentración de gases en el vial sea representativa de la existente en el espacio de cabeza de la cámara (Ver Fig. A4). El vial con la muestra se lleva al laboratorio donde se procederá a realizar el análisis de su composición. El problema de este mecanismo está en saber cuándo verdaderamente se ha alcanzado el equilibrio entre los gases contenidos en el vial y los de la cámara dispuesta sobre el suelo (Magnusson, 1989; Sitaula y col., 1992).

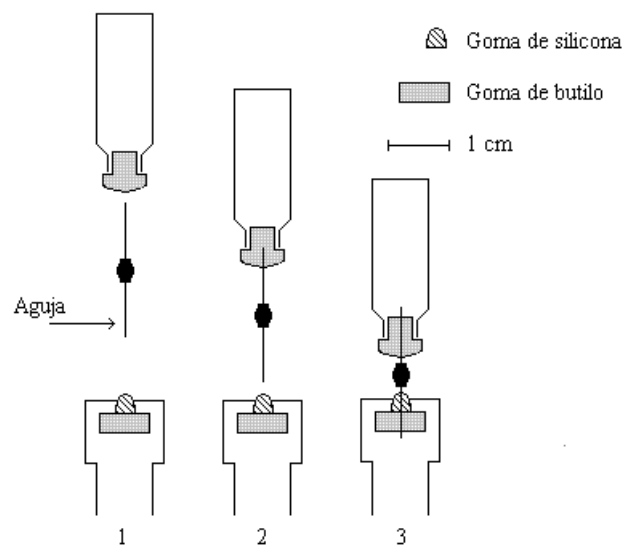


Figura A4: Sistema de recogida de muestras diseñado por Magnusson, 1989.

### III.2.3.- Determinaciones del CO<sub>2</sub> desprendido por el suelo:

El análisis del CO<sub>2</sub> en estudios del suelo, es importante para evaluar la actividad biológica, la descomposición de materia orgánica, las medidas de biomasa microbiana e



incluso el contenido en carbonatos. Existen métodos basados en la absorción de cantidades de CO<sub>2</sub> por un álcali que después serán estimadas por métodos gravimétricos, conductimétricos, manométricos, titramétricos o potenciométricos (Stotzky, 1965; Anderson, 1982; Franzluebbbers y Arshad, 1997; Grisi y col., 1998; Leirós y col., 1999). Si bien estos métodos no son tan sensibles, destacan considerablemente en cuanto a su economía.

Rowell y col. (1994) describen un método sensible y versátil para medir CO<sub>2</sub>, que consiste en hacerlo pasar a través de una solución con exceso de iones carbonato que contenga un indicador de pH, la concentración se puede estimar visualmente o utilizando un colorímetro simple, haciendo lecturas de absorbancia a 572 nm.

Actualmente, la cromatografía de gases o espectroscopía infrarroja son ampliamente utilizadas en este campo. Se trata de técnicas rápidas, sensibles y generalmente libres de interferencias, sin embargo precisan de equipamiento costoso, que requiere un caro mantenimiento, y que muchas veces no es posible para utilizar en medidas de campo.

Diversos autores han optado por analizadores basados en la espectroscopía infrarroja para la determinación de los flujos de CO<sub>2</sub> (Niclaus y col., 1996 y 1998; Kelting y col., 1998; Wagai y col., 1998; Craine y col., 1999)

El detector de cromatografía gaseosa más utilizado en la bibliografía para la determinación del dióxido de carbono desprendido por el suelo, es el de termoconductividad (TCD: Thermal Conductivity Detector). (Wang y col., 1999; Rustad y col., 1998; Christensen y col., 1999a). Sin embargo, algunos autores se deciden por otras técnicas de detección como la de captura de electrones (ECD; Electron Capture Detector) (Bowden y col., 1998). Incluso algunos optan por transformar el CO<sub>2</sub> en metano mediante un catalizador y después utilizar el detector de ionización de llama (FID: Flame ionization detector) (Ineson y col., 1998; Mckenzie y col., 1998).

Algunos autores utilizan distintas técnicas para comparar su efectividad, como Dueñas y col. (1995), que miden las emisiones de CO<sub>2</sub> desde diversos suelos de los alrededores de Málaga, utilizando dos métodos diferentes: uno directo usando la técnica de la cámara estática y después GC-FID, y otro indirecto, a partir de las medidas de los flujos de <sup>222</sup>Rn entre la superficie del suelo y el aire.

### **III.2.4.- Determinaciones de N<sub>2</sub>O desprendido por el suelo:**

Existen numerosos trabajos que tratan de estudiar los procesos de nitrificación y desnitrificación, por los cuales se libera óxido nitroso a partir del suelo (Bremner, 1997; Velthof y Onema, 1995).

La cromatografía de gases es la técnica más ampliamente utilizada en este sentido. El sistema detector de elección para detección gas cromatográfica de N<sub>2</sub>O es generalmente el de captura de electrones (ECD: Electron Capture Detector) (De Groot y col., 1994; Covert y col., 1995; Carran y col., 1995; Beuchamp y col., 1996). Si bien otros autores han optado por la utilización de otros detectores como el de termoconductividad (TCD: Thermal Conductivity Detector) (Langeveld y col., 1994), el de quimioluminiscencia (Klüber y Conrad, 1998), o la espectrometría de masas (Sich y Russow, 1999).

En este tipo de estudios, es muy frecuentemente utilizada la técnica de inhibición por acetileno, que impide la transformación en N<sub>2</sub> del N<sub>2</sub>O, pudiendo así éste último ser detectado analíticamente (Yoshinari y Knowles, 1976; Mogge y col., 1994; Dendooven y col., 1998).

En los últimos años han aumentado el número de trabajos que investigan cómo afecta el uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos en el desprendimiento del óxido nitroso (Kaiser y col., 1998; Chadwick y col., 1998; Mogge y col., 1999; Arcara y col., 1999; Bèline, 1999). Al igual que aquellos que tratan de estudiar la interacción entre calentamiento global, el ciclo del nitrógeno y las emisiones de N<sub>2</sub>O (Hantschel y col., 1995; Kasimir-Klemetsson y col., 1997; Veldkamp y col., 1999).

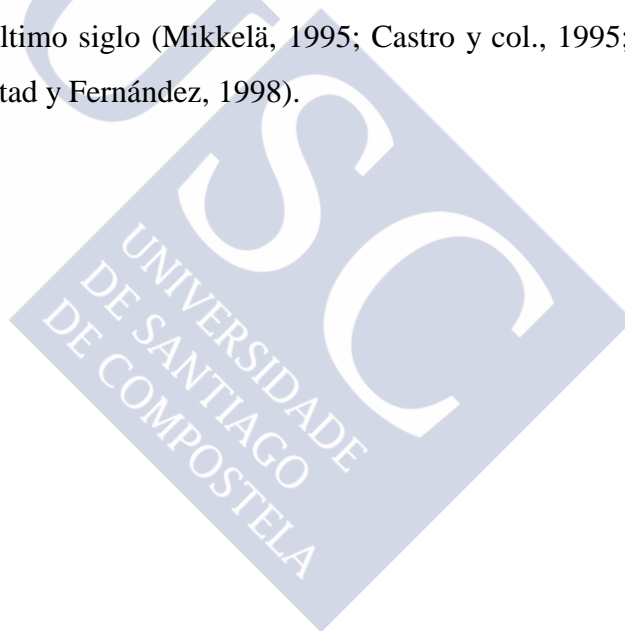
### **III.2.5.- Determinación de CH<sub>4</sub> desprendido por el suelo:**

El análisis mediante cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama (FID: Flame Ionization Detector) es la técnica mayormente utilizada para la determinación de metano producido por los suelos (Loftfield y col., 1997, Bergman y col., 1998; Chadwick y col., 1998, Van den Pol-Van Dasselaar y col., 1998).

Se han realizado numerosos trabajos que estudian el efecto de la adición de fertilizantes y el contenido de agua del suelo sobre el flujo de CH<sub>4</sub> (Castro y col., 1994; Sundh y col., 1995; Dunfield y col., 1995; Crozier y col., 1995, Christensen y col., 1999c).

Los suelos pantanosos y los campos de arroz, son considerados los grandes productores de gas metano, por lo que muchos autores han orientado su investigación en este sentido. (Watanabe y col., 1994 y 1995; Nikanen y col., 1995)

También se han realizado estudios de campo y de laboratorio a cerca del fenómeno de oxidación del CH<sub>4</sub> para convertirse en CO<sub>2</sub> (Yavitt y col., 1995; Brzezinska y col., 1998; De Visscher, y col. 1999). El consumo de metano por suelos y sus implicaciones en los fenómenos de retroalimentación (positiva o negativa) con el cambio climático, son temas que han adquirido mucha trascendencia debido a las evidencias del incremento de las temperaturas durante el último siglo (Mikkilä, 1995; Castro y col., 1995; Torn y col., 1996; Bowden y col., 1998; Rustad y Fernández, 1998).





#### **IV.- OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.**

## **IV.1.- Fundamento.-**

La técnica analítica seleccionada para la determinación de gases “tipo invernadero” a partir de distintas muestras de suelo, es la cromatografía gaseosa con espacio de cabeza estático (HSGC: “Head Space Gas Chromatography”).

El espacio de cabeza está diseñado para la determinación rápida de componentes volátiles. El principio de operación de esta técnica se basa en el análisis cromatográfico de una muestra en fase de vapor que permanece en equilibrio termodinámico con la muestra líquida o sólida que esté en el vial cerrado. El uso combinado de las técnicas de espacio de cabeza estático y cromatografía de gases, permite por un lado, la explotación en grado máximo de las ventajas propias de la cromatografía de gases (alta eficacia, sensibilidad y selectividad), y por otro, su simplicidad es tal, que se convierte en la primordial ventaja de esta técnica frente a otras posibles para análisis de volátiles como son, las técnicas del espacio de cabeza dinámico o de “purge y trap” (purga y atrapamiento) (Bérrubé y col., 1999).

En este trabajo no se pretende el análisis de componentes volátiles contenidos en una matriz sólida o líquida, sino la determinación de gases permanentes. Sin embargo, esta técnica se considera óptima para desarrollar el presente estudio. Es especialmente apropiada para realizar incubaciones en condiciones controladas, donde los gases emitidos por una muestra de suelo (que ha permanecido en un vial convenientemente cerrado), se irán acumulando en el espacio de cabeza del vial.

Una vez optimizados los sistemas de separación y detección de dichos compuestos, se emplean las técnicas analíticas de identificación y cuantificación más idóneas y se establecen, para cada uno de los gases a analizar, los coeficientes de regresión, precisión y límites de detección del método analítico utilizado.

## IV.2.- Reactivos utilizados.-

### IV.2.1.-Patrones químicos:

Los patrones de los gases que nos interesan en este estudio, han sido adquiridas a la Sociedad Española de Oxígeno en tres botellas diferentes del tipo B10ALSEO. Todas ellas contienen mezclas de gases precisas que han sido preparadas de manera ponderal (mol/mol).

#### BOTELLA N°1:

*Denominación:*  $\text{NO}_2 + \text{N}_2\text{O} + \text{CO}_2 + \text{CH}_4$ . *Código de DR:* DR302832. *Número de botella:* 00002617. *Precisión a 15°C:* 150B. *Racord/Grifo:* MHM. *Número de Lote:* 13759000. *Temperaturas límite:* de -10°C a 50°C. *Estado físico a 15°C:* gas. *Componente tóxico:* sí. *Componente inflamable:* sí.

*Composición:*

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN PEDIDA	CONCENTRACIÓN MOLAR REALIZADA	PRECISIÓN ABSOLUTA
$\text{NO}_2$	200 ppm	210 ppm	$\pm 20$ ppm
$\text{N}_2\text{O}$	200 ppm	190 ppm	$\pm 20$ ppm
CO	200 ppm	264 ppm	$\pm 20$ ppm
$\text{CH}_4$	0,20 %	0,201 %	$\pm 0,005$ %
$\text{CO}_2$	2,00 %	2,18 %	$\pm 0,05$ %
$\text{O}_2$	20,50 %	20,40 %	$\pm 0,40$ %
$\text{N}_2$	resto	Resto	

**Tabla M1: Composición de la botella patrón n°1.**

#### BOTELLA N°2:

*Denominación:*  $\text{SH}_2 - 200 \text{ ppm} + \text{N}_2 - \text{R}$ . *Código de DR:* DR302197. *Número de botella:* 00000840. *Precisión a 15°C:* 150B. *Racord/Grifo:* ESP. *Número de Lote:* 13876210. *Temperaturas límite:* de -10°C a 50°C. *Estado físico a 15°C:* gas. *Componente tóxico:* sí. *Componente inflamable:* sí.

*Composición:*

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN PEDIDA	CONCENTRACIÓN MOLAR REALIZADA	PRECISIÓN ABSOLUTA
$\text{SH}_2$	200 ppm	182 ppm	
$\text{N}_2$	resto	resto	

**Tabla M2: Composición de la botella patrón n°2.**

**BOTELLA N°3:**

*Denominación:* SO<sub>2</sub> – 200 ppm + AIRB10. *Código de DR:* DR302877. *Número de botella:* 00007903. *Precisión a 15°C:* 150B. *Racord/Grifo:* MGM. *Número de Lote:* 13876200. *Temperaturas límite:* de -10°C a 50°C. *Estado físico a 15°C:* gas. *Componente tóxico:* sí. *Componente inflamable:* no.

*Composición:*

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN PEDIDA	CONCENTRACIÓN MOLAR REALIZADA	PRECISIÓN ABSOLUTA
SO <sub>2</sub>	200 ppm	206 ppm	± 0,4 ppm
AIRE	resto	resto	

**Tabla M3: Composición de la botella patrón n°3.**

**IV.2.2.- Otros:**

Helio N-50, suministrado por la Sociedad Española de Oxígeno (SEO).

Aire sintético N-50 no medicinal, suministrado por SEO.

Hidrógeno N-50, suministrado por SEO.

Agua desmineralizada, calidad Milli-Q (Millipore Corporation).

Ácido ortofosfórico al 85%, MERCK.

Sulfito sódico anhidro, PROBUS.



### **IV.3.- Material e instrumentación.-**

#### **IV.3.1.- Aparatos:**



**Figura M1: Sistema HSGC-MS.**

#### **SISTEMAS CROMATOGRÁFICOS:**

- ✓ Unidad de control GC 8000 series (Fisons) configurada con presión digital y regulador de flujo DPFC 800. Utilizado para el modelo de inyección split-splitless.
- ✓ Unidad de control GC Top 8000 series (CE Instruments) configurada con presión digital, regulador de flujo y de split DPFC 800. Utilizado para el modelo de inyección split-splitless.

#### **ESPACIO DE CABEZA:**

- ✓ Módulo Head Space Autosampler HS 850 (Fisons): espaciador de cabeza estático con inyector automático.

#### **DETECTORES:**

- ✓ Detector de espectrometría de masas MD-800 con fuente de Impacto Electrónico (Fisons).
- ✓ Detector de ionización de llama de hidrógeno FID-80 (Fisons).
- ✓ Detector de fotoionización PID-800 con lámpara UV de 10,6 eV (Fisons).

#### **ACCESORIO CRIOGÉNICO:**

- ✓ Módulo CRYO 820 (Fisons)

#### **IV.3.2.- Columnas:**

- ✓ Columna capilar GS-Q, (J&W Scientific, 30 m x 0.32 mm x 0.25  $\mu$ m).
- ✓ Columna capilar DB-5, (J&W Scientific, 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m).
- ✓ Columna capilar DB-624, (J&W Scientific, 30 m x 0.32 mm x 1.8  $\mu$ m).

#### **IV.3.3.- Herramientas informáticas:**

- ✓ Ordenador personal IBM 330-466DX2, con 8 MB de memoria RAM, con sistema operativo MS-DOS, en el entorno Windows 3.11 para trabajo en grupo.
- ✓ Ordenador personal Pentium Digital Venturis (Digital Equipment Corporation), con 24,0 MB de memoria RAM en entorno Windows 95.
- ✓ Software de adquisición de datos CHROM-CARD versión 1.18.
- ✓ Software de adquisición de datos (MS) MASSLAB versión 1.4.
- ✓ Software de adquisición de datos (MS) MASSLYNX versión 2.0.
- ✓ Bibliotecas de espectros Wiley y Nist.
- ✓ Hoja de cálculo Excel 7.0 de Microsoft Office 97.
- ✓ SPSS (versión 9.0) y STATISTICA (versión 4.5) para Windows para el tratamiento estadístico de los datos.

#### **IV.3.4.- Otros:**

- ✓ Viales apropiados para el Head Space (de 20 mL, y tamaño 75x22 mm).
- ✓ Cápsulas metálicas.
- ✓ Septums de teflón/gray butyl de 20mm de diámetro.
- ✓ Jeringa Hamilton de vidrio de 2.5 mL, hermética especial para gases.
- ✓ Jeringas de polipropileno de 100 mL de uso medicinal.
- ✓ Agujas desechables (15 mm de longitud) de uso medicinal.
- ✓ Bomba de vacío MILLIPORE, modelo XX5522050.

#### **IV.4.- Condiciones cromatográficas.-**

Se han decidido las siguientes condiciones cromatográficas, por haberse considerado óptimas para llevar a cabo tanto los muestreos de campo, como la mayoría de los ensayos de laboratorio que van a formar parte de este estudio.

##### **ESPACIO DE CABEZA y BLOQUE DE INYECCIÓN:**

*Temperatura de termostatización: 40°C, tiempo: 0 min*

*Temperatura de la jeringa: 45°C*

*Volumen de: llenado: 1 mL. Profundidad: 20 mm.*

*Volumen de inyección: 0.2 mL. Velocidad: 10 mL/min.*

*Temperatura del bloque de inyección: 70°C.*

##### **CONTROLADOR DE FLUJO Y PRESIÓN:**

*Gas portador: Helio, flujo constante=1 mL/min; razón de “split” = 1:20.*

##### **CROMATÓGRAFO DE GASES:**

*Columna: capilar GS-Q (fase estacionaria), de 0,32 mm de diámetro interno, y 30 m de longitud.*

*Programa de temperaturas del horno: 3 minutos a 38 °C, gradiente lineal con velocidad de 40°C/min desde 38°C hasta 125°C, seguido de 1 min a 125°C.*

##### **DETECTOR DE MASAS:**

*Fuente de Impacto Electrónico: energía del impacto 70 eV, temperatura de la fuente 200 °C, y temperatura de la interfase 250°C. Se han utilizado dos métodos de detección de masas diferentes:*

*“FULL SCAN”: barrido completo desde la masa 12 hasta la 300.*

*“SIR” (“Single Ionization Recording”): sintonizando siete masas características,  $m/z = 15, 16, 28, 30, 32, 34$  y 44.*

## **IV.5.- Procedimiento.-**

### **IV.5.a.- Manejo y transporte de gases:**

Es necesario tener un sistema de transporte de los gases, que garantice una medida real y convenientemente precisa. El mecanismo debe permitir el trasvase de gas desde el lugar real de toma de muestra hasta el laboratorio, para que pueda llevarse a cabo su análisis cromatográfico. Debe ser cómodo y rápido, para facilitar el trabajo en el campo, pero a la vez, ha de asegurar el llenado completo del vial con el gas que se pretende analizar, de una manera uniforme, reproducible y libre de interacciones. Con esta intención se han probado dos alternativas:

- i) Hacer vacío durante 15 minutos en los viales previamente encapsulados, mediante una bomba y una aguja desechable que atraviese el “septum” del vial. Seguidamente se llenan con el gas que se va a someter al análisis cromatográfico, ayudándose de una jeringa de 100 mL provista de una aguja.
- ii) Llenar el vial con agua destilada y después proceder al llenado con gas mediante la jeringa de 100 ml y dos agujas, una de entrada y otra de salida. A medida que se introduce el gas en el vial, éste va vaciando el contenido de agua a través de la aguja de salida.

Se ha tratado de valorar cuál de los dos métodos sería más ventajoso en cuanto a su exactitud y reproducibilidad, para ello se han realizado los siguientes ensayos:

#### **1º) Exactitud o cálculo del aire residual.-**

Con el fin de conocer el porcentaje residual de aire que queda en el vial una vez aplicados cada uno de los métodos anteriormente descritos, se procede a preparar grupos de 4 viales: 4 se llenan con nitrógeno después de hacer vacío durante 15 minutos, otros cuatro viales se llenan también con nitrógeno pero tras el llenado/vaciado con agua destilada, en otro grupo simplemente se borbotea nitrógeno gas y por último, se cierran otros cuatro que sirven de

control y cuyo contenido es el de la atmósfera del laboratorio. Todos ellos se someten al análisis cromatográfico con detección de masas en modo “SIR”.

#### 2º) Cálculo del número de llenados necesarios y de la reproducibilidad.-

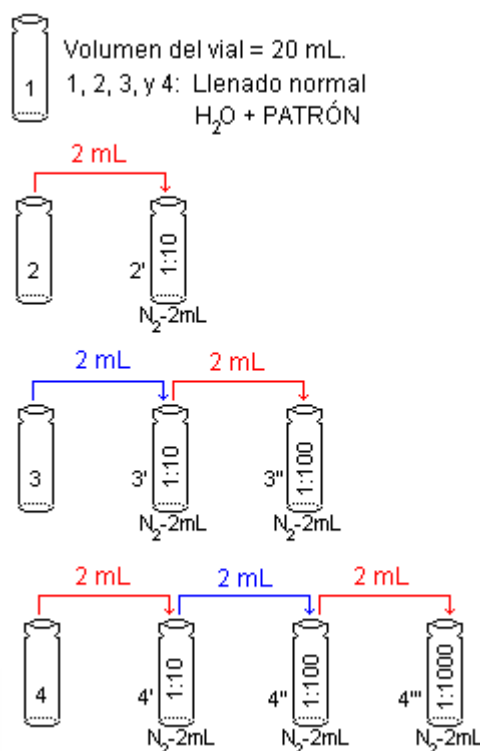
El objetivo es tratar de conocer si se consiguen mejorar los resultados haciendo más de un llenado de gas en el vial de manera consecutiva, tanto aplicando uno como otro método, además de probar la reproducibilidad de ambos sistemas. Para ello, se preparan 24 viales con gas de la botella patrón nº1, la mitad de los mismos habrán sido prellenados con agua, y en los otros se habrá hecho previamente el vacío durante 15 minutos. Seguidamente, 4 viales de cada tipo se llenarán con el gas contenido en una jeringa de 100 mL (como se describe en el apartado anterior). En otro grupo (4 de ambos métodos) se intentará el llenado de gas con dos vertidos consecutivos de 100 mL desde la jeringa, mientras que en el resto de viales se probará con tres vertidos sucesivos.

#### *Consideraciones:*

En el primer llenado con la jeringa después de haber utilizado el método de vacío, no será necesaria una segunda aguja (de salida), el gas pasará desde la jeringa al vial debido a la diferencia de presión existente y hasta el momento en que se alcance el equilibrio entre ambos. Sin embargo, a partir del segundo llenado se está forzando la entrada de gas, y por tanto será necesaria una aguja que permita la salida.

### **IV.5.b.- Calibración:**

*Preparación de los patrones de calibración.* Con el fin de probar la linealidad del método analítico, se han hecho distintas diluciones a partir de los gases de las botellas patrón. Siguiendo las instrucciones de la figura M2, se consiguen 3 diluciones distintas a partir de la concentración de la botella del patrón.



**Figura M2: Procedimiento para la preparación de los patrones de calibración.**

Para obtener cada una de las concentraciones deseadas se han de seguir todos los pasos desde el principio. Por ejemplo, para llegar a una dilución 1:100 desde la inicial (tercera línea), son necesarias dos diluciones consecutivas, y se procedería de la siguiente manera: desde un vial (3) lleno con patrón mediante el método usual, se extraen 2 mL de gas (con la jeringa hermética) que se trasvasan al vial 3' (previamente llenado con  $N_2$  y del que ya se han extraído 2mL). Este vial 3', tendrá ahora una concentración de 2:20, y de él se cogerán 2 mL que se pasarán a otro (3'', también estaría lleno de  $N_2$  menos 2 mL), así que se conseguirá una dilución 2:200, o lo que es lo mismo 1:100.

Se han preparado cuatro sets de calibración con 4 puntos distintos (como en la figura), es decir, un duplicado para analizar en modo “SIR” y otro en “FULL SCAN”. Fue, por tanto, necesario llenar: 16 ( $4 \times 4$ ) viales con gas de la botella patrón y 24 ( $6 \times 4$ ) con nitrógeno gas (- 2 mL). Se han llenado, a mayores, 4 viales con nitrógeno, serán los correspondientes blancos.

Una vez obtenidos los cromatogramas, se extraen aquellas masas características de cada compuesto que serán posteriormente usadas en la cuantificación., se determina el área de los picos correspondientes y se construye la recta de regresión para cada caso.

### IV.5.c.- Límite de detección:

Para confirmar el límite de detección (y cuantificación) de cada una de las variantes del método cromatográfico para cada uno de los compuestos, se han inyectado viales con gas, cada vez en una concentración más diluida, y se han calculado, teniendo en cuenta que la relación señal/ruido para los picos de los analitos no sea inferior a 3.

### IV.5.d.- Precisión:

Para calcular la precisión del método analítico, se llenan seis viales con gas de cada una de las botellas patrón (tal y como está descrito en el apartado de transporte de gases) y se procede a su análisis cromatográfico con detección de masas en modo “SIR”. De igual manera se procede para probar la precisión en el modo “FULL SCAN”.

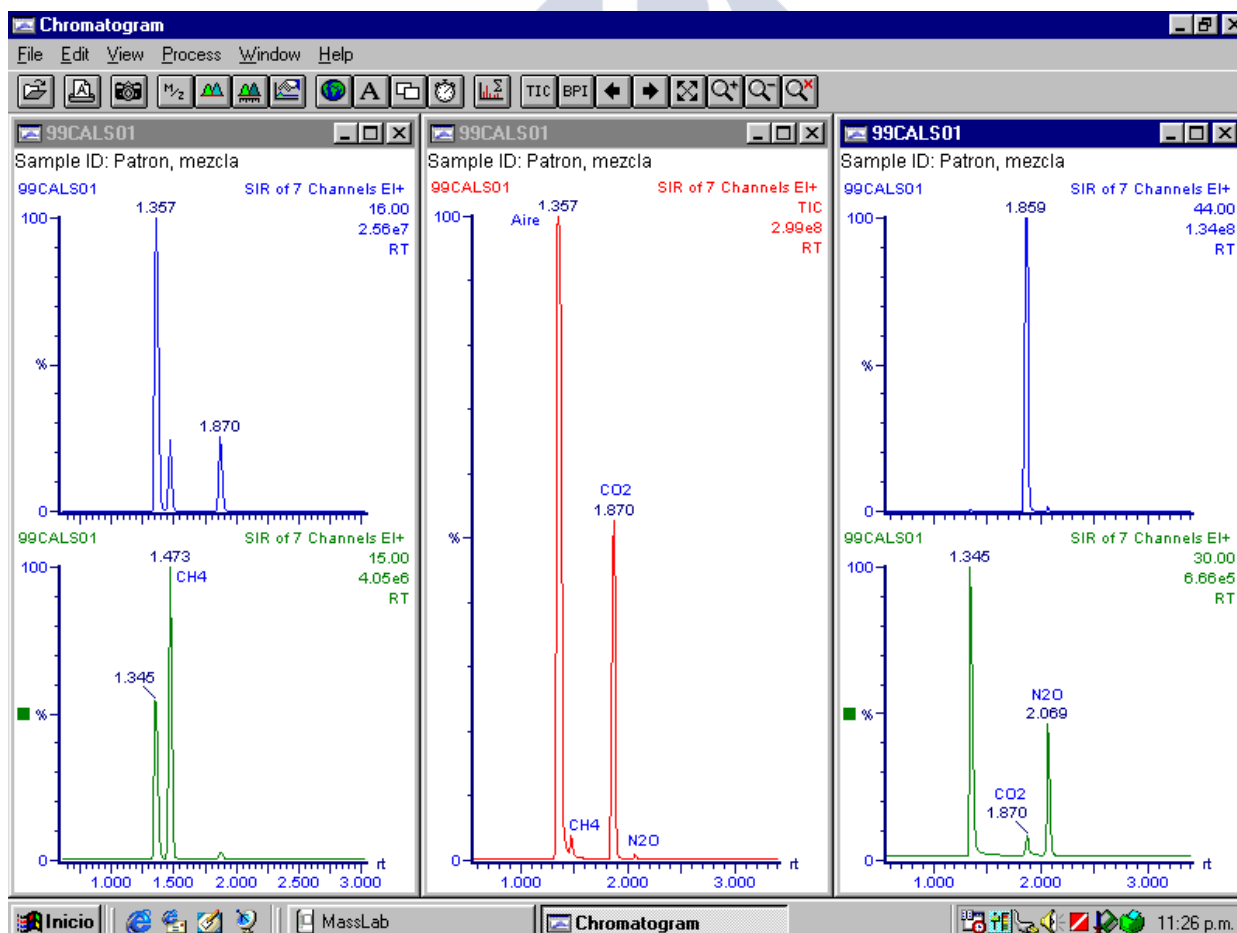


Figura M3: Cromatogramas de la mezcla de patrones de la bala n°1, obtenidos en modo SIR. Se muestran el correspondiente al TIC, y los de las masas 15,16,30 y 44.



## IV.6.- Resultados.-

### IV.6.a.- Manejo y transporte de gases:

#### 1º) Cálculo del aire residual.-

Se han medido las áreas de los picos correspondientes al pico del CO<sub>2</sub> (m/z=16), los resultados se recogen en la tabla que se muestra a continuación. De esta manera se puede calcular el porcentaje de CO<sub>2</sub> que queda en los viales en cada uno de los casos y en relación al contenido en el mismo del aire del laboratorio. A la vista de los resultados, las diferencias entre ambos sistemas no son significativas.

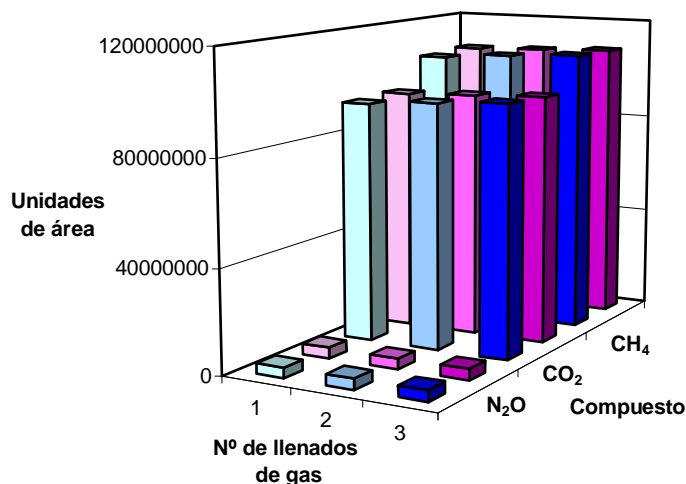
	AIRE	VACÍO+N <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O+N <sub>2</sub>	borboteoN <sub>2</sub>
UNIDADES	1117401	68571	55983	61000
DE ÁREA CO <sub>2</sub>	1140087	50030	50805	62500
SIR M/Z=16	933425	48400	52180	57325
	918419	50285	53030	65283
<b>MEDIA</b>	<b>1027333</b>	<b>54321,5</b>	<b>52999,5</b>	<b>61527,0</b>
<b>% residual</b>		<b>5,29%</b>	<b>5,16%</b>	<b>5.99%</b>

Tabla M4: Resultados del cálculo del aire residual.

#### 2º) Cálculo del número de llenados necesarios y de la reproducibilidad.-

Se miden las áreas correspondientes a los picos del CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O y CH<sub>4</sub> para cada una de las réplicas y para cada caso (tipo de método y número de llenados efectuados) se calcula la media y la desviación estándar. Los resultados de las medias de cada grupo se recogen en la siguiente gráfica. La desviación estándar por cien (RSD) es, en todos los casos, menor del 8%.

Aparentemente no se puede observar diferencias en las áreas de los patrones que se han inyectado después de hacer vacío (rosa), y los que previamente se han llenado de agua (azul). Tampoco, cuando los viales han sido llenados más de 1 vez con gas (2 ó 3 veces de manera consecutiva).



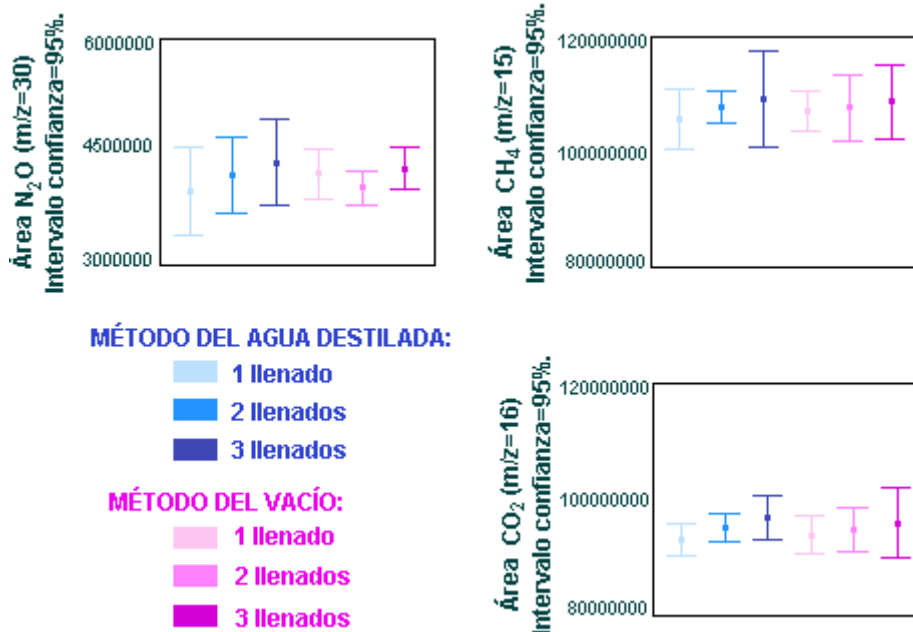
**Gráfica M1: Comparación de métodos de transporte de gases:**

**ROSA:** método de vacío.

**AZUL:** método de llenado/vaciado con agua destilada.

El color es más intenso cuanto mayor es el número de llenados (3 > 2 > 1).

Para comprobar que efectivamente no existen diferencias significativas al utilizar uno u otro método, ni tampoco variando el número de llenados de gas, se procede a realizar un análisis de varianza de una vía, donde la variable independiente será el tipo de método, la cual tendrá tres niveles diferentes dependiendo del número de llenados (1,2 y 3).



**Gráficas M2, M3 y M4: Resultados del análisis de la varianza para la comparación de métodos de transporte de los gases: N<sub>2</sub>O (M2), CH<sub>4</sub> (M3) y CO<sub>2</sub> (M4).**

A la vista de los resultados, se puede concluir que la diferencia de varianzas no es significativa (Prueba de Levene  $p > 0,05$ , en todos los casos), así como tampoco lo son las diferencias de medias (ANOVA:  $p > 0,05$  en todos los casos). Se puede concluir que, tanto la variación intergrupo (o intersujetos) como intragrupo se puede considerar NO significativa.

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Área CO <sub>2</sub> (m=16)	1.089	5	18	.400
Área CH <sub>4</sub> (m=15)	.882	5	18	.513
Área N <sub>2</sub> O (m=30)	1.791	5	18	.166

**Tabla M5: Resultados de la prueba de Levene para la comparación de métodos de transporte de los gases: N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>.**

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Área CO <sub>2</sub> (m=16)	Inter-grupos	3.87E+13	5	7.74E+12	1.304	.306
	Intra-grupos	1.07E+14	18	5.94E+12		
	Total	1.46E+14	23			
Área CH <sub>4</sub> (m=15)	Inter-grupos	3.12E+13	5	6.24E+12	.502	.771
	Intra-grupos	2.24E+14	18	1.24E+13		
	Total	2.55E+14	23			
Área N <sub>2</sub> O (m=30)	Inter-grupos	4.29E+11	5	8.57E+10	1.131	.380
	Intra-grupos	1.37E+12	18	7.58E+10		
	Total	1.79E+12	23			

**Tabla M6: Resultados del ANOVA para la comparación de métodos de transporte de los gases: N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>.**

#### IV.6.b.- Calibración:

Una vez obtenidos los cromatogramas correspondientes a los patrones que constituyen el “set” de calibración, se extraen aquellas masas características de cada compuesto que serán posteriormente usadas en la cuantificación., se determina el área de los picos correspondientes y se construye la recta de regresión para cada caso. Los datos esenciales y los resultados de las distintas regresiones están recogidos en la siguiente tabla, se puede apreciar que, en el peor de los casos, el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) es 0.9978.

COMPUESTO	Método MS	Masa seleccionada	Puntos de calibración	Concentraciones ponderales	b	r <sup>2</sup>
CO <sub>2</sub>	FULL SCAN	m/z=44	n=4	2,2 %-22 ppm	705,02	0,9994
		m/z=16	n=4	2,2 %-22 ppm	11,93	0,9998
	SIR	m/z=44	n=3	0,2 %-22 ppm	21142,13	0,9978
		m/z=16	n=4	2,2 %-22 ppm	943,60	0,9998
CH <sub>4</sub>	FULL SCAN	m/z=16	n=4	0,2 %-2,0 ppm	101,13	0,9989
		m/z=15	n=4	0,2 %-2,0 ppm	73,58	0,9993
	SIR	m/z=16	n=4	0,2 %-2,0 ppm	8636,231	0,9997
		m/z=15	n=4	0,2 %-2,0 ppm	5502,67	0,9993
N <sub>2</sub> O	FULL SCAN	m/z=44	n=3	190 - 1,9 ppm	811,99	0,9990
		m/z=30	n=3	190 - 1,9 ppm	154,60	0,9992
	SIR	m/z=44	n=4	190 - 0,2 ppm	21495,638	0,9985
		m/z=30	n=4	190 - 0,2 ppm	5480,75	0,9996

Tabla M7: Datos sobre la linealidad del método. Ecuación de calibración:  $y=bx$ .

#### IV.6.c.- Límite de detección:

Se han calculado para cada una de las posibilidades de análisis de todos los compuestos estudiados, teniendo en cuenta que la relación señal/ruido para los picos de los analitos no sea inferior a 3. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

CO <sub>2</sub>						CH <sub>4</sub>				
m/z	FULL SCAN			SIR		FULL SCAN			SIR	
	TIC	16	44	16	44	TIC	15	16	15	16
LD (ppm) <sup>a</sup>	15	15	1,5	3,7	1,2	70	2	2	2	2
LD (mg/L)	2,9 E <sup>-02</sup>	2,9 E <sup>-02</sup>	2,9 E <sup>-03</sup>	7,3 E <sup>-03</sup>	2,4 E <sup>-03</sup>	5,0 E <sup>-02</sup>	1,4 E <sup>-03</sup>	1,4 E <sup>-03</sup>	1,4 E <sup>-03</sup>	1,4 E <sup>-03</sup>

N <sub>2</sub> O						SH <sub>2</sub>				
m/z	FULL SCAN			SIR		FULL SCAN			SIR	
	TIC	30	44	30	44	TIC	34	33	34	33
LD (ppm) <sup>a</sup>	20	2	1	0,2	0,2	30,3	18,2	18,2	6,1	6,1
LD (mg/L)	3,9 E <sup>-02</sup>	3,9 E <sup>-03</sup>	2,0 E <sup>-03</sup>	3,9 E <sup>-04</sup>	3,9 E <sup>-04</sup>	4,6 E <sup>-02</sup>	2,8 E <sup>-02</sup>	2,8 E <sup>-02</sup>	9,3 E <sup>-03</sup>	9,3 E <sup>-03</sup>

<sup>a</sup> partes por millón ponderales (mol/mol).

Tabla M8: Resultados de los límites de detección (LD: Señal/ruido = 3).

**IV.6.d.- Precisión:**

Se calculan, a partir de las medidas de las áreas correspondientes a las seis réplicas de cada uno de los casos, las desviaciones estándar expresadas en tanto por cien (RSD), obteniendo para todos los casos valores inferiores al 7 %. Los resultados se pueden visualizar en la tabla siguiente:

		CO <sub>2</sub>				CH <sub>4</sub>			
		FULL SCAN		SIR		FULL SCAN		SIR	
m/z		16	44	16	44	15	16	15	16
RSD		4,95	1,60	4,30	sat	5,63	5,84	4,84	5,84

		N <sub>2</sub> O				SH <sub>2</sub>			
		FULL SCAN		SIR		FULL SCAN		SIR	
m/z		30	44	30	44	34	33	34	33
RSD		4,45	6,75	6,06	6,09	6,57	6,94	6,70	6,71

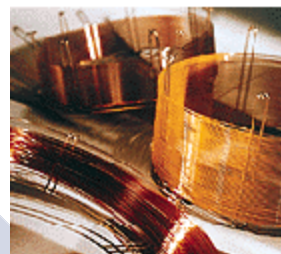
Tabla M9: Resultados de la precisión del método.



## **IV.7.- Discusión.-**

### **VI.7.a.- Elección de la fase estacionaria:**

La habilidad de un sistema cromatográfico para conseguir una buena separación o resolución de las mezclas, depende casi enteramente de la elección de la columna (Salvi y col., 1997). En cromatografía de gases se puede diferenciar entre dos tipos de columnas: las de relleno (0,5-3 m de tubo de metal o vidrio con un diámetro interno de 2-5 mm, el cual se llena de la fase estacionaria que convenga para cada caso) o capilares (generalmente de 12-100 m de sílica fundida con un diámetro interno muy pequeño de 0,18-0,53 mm, sobre el que está el sólido o líquido que va a actuar como fase estacionaria). Probablemente existen millares de columnas en el mercado hoy en día.



**Figura M4: Columnas comerciales.**

La técnica más usada para la separación de gases y compuestos de bajo peso molecular es la cromatografía gas-sólido. En numerosas referencias de la bibliografía consultada se utilizan columnas, bien sean de relleno o capilares, donde la fase estacionaria es un sólido, ya sea un tamiz molecular (Aflalaye y col., 1997), polímero poroso (Yung y col., 1995a), ciclodextrinas sobre silicagel (Reid y col., 1993), carbon activo (Kulagina y col., 1998) u otros posibles. A lo largo del análisis, la interacción que se producirá entre la fase móvil, sobre la que irá la mezcla de gases inorgánicos, y la fase estacionaria es prácticamente debida al volumen de las moléculas, es decir, se produce una separación por tamaños.

Una columna ideal para la separación de un compuesto puede no serlo para otro, así que la solución de muchos autores es utilizar varios tipos de columnas diferentes, pueden ser dos conectadas en serie (Schield y col., 1997) o incluso tres (Hiyama y col., 1994; Navale y col., 1998), o en paralelo con más de un detector (Reis Alves y col., 1994).

Se ha elegido como fase estacionaria para desarrollar el método analítico y realizar la mayor parte de este trabajo, un sólido poroso: el homopolímero de divinilbenceno (Souza,

1993; Poli, 1997 y col.; Careri y col., 1999). La columna capilar utilizada es una GS-Q (J&W Scientific, 0.32 mm de diámetro interno y 30 m de longitud).

Sin embargo en ciertos puntos conflictivos del estudio se han hecho comparaciones y pruebas con otras dos columnas, una de amplio uso en cromatografía gaseosa: DB-5 (J&W Scientific, 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m), y otra específicamente diseñada para el análisis de compuestos volátiles: DB-624 (J&W Scientific, 30 m x 0.32 mm x 1.8  $\mu$ m). Esta última fue usada por Marchand y col. en 1994.

Para comprobar el buen estado de la columna es necesario calcular su eficacia, o lo que es lo mismo, el número de platos teóricos (TPN: “Theoric Plates Number”). Esto se efectuará, en cualquier momento del análisis que se considere conveniente, mediante la exportación de datos desde el MassLab al Chrom-Card, cuyo “Sistem Suitability” permite realizar estos cálculos.

#### VI.7.b.- Elección del detector:

La detección de los gases objeto de este estudio, se ha pretendido llevar a cabo por espectrofotometría de masas (Eisele y col., 1992; Blomquist y col., 1993; Fugimori y col., 1995; Lauf y col., 1998) y alternativamente con detectores de fotoionización (PID: Photoionization Detector, Bray y col., 1992; Hiyyama y col., 1994; Bulycheva y col., 1995; Salvi y col., 1997) y de llama (FID: Flame Ionization Detector, Castello y col., 1990, Denha y col., 1994; Yung y col., 1995b; Lin, 1996) instalados en serie mediante una precolumna.

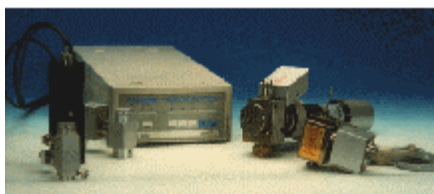


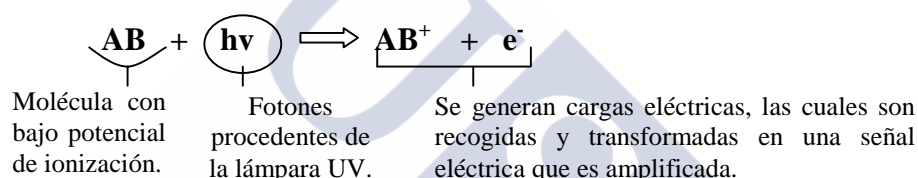
Figura M5: Detectores PID y FID.

El detector **FID** es un detector ampliamente utilizado en cromatografía gaseosa, responde a casi todo tipo de sustancias pero, precisamente, entre las excepciones se encuentran: N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, NO<sub>2</sub>, NO, SO<sub>2</sub> y SH<sub>2</sub> (Valcarcel y Gómez, 1994). Así que, es el CH<sub>4</sub> el único de los compuestos de interés en este trabajo, que presenta características idóneas para ser determinado por FID. El funcionamiento del detector de



llama, está basado en la relación directa que existe entre la conductividad eléctrica de un gas y la concentración de partículas cargadas existentes en el mismo. Se utiliza una llama de hidrógeno como fuente de ionización de las moléculas que fluyen a su través. La corriente gaseosa que sale de la columna se mezcla con una corriente de hidrógeno (combustible) y entra en el detector donde se produce la combustión. Para soportar la llama se introduce aire (comburente). El detector dispone de un sistema de electrodos. Durante la combustión, se forman partículas cargadas, lo que origina un flujo de corriente y disminuye la resistencia entre los electrodos.

El detector **PID** no tiene una utilización tan difundida, usa la radiación generada por una lámpara UV para ionizar los compuestos que eluyen por la columna cromatográfica. El principio de operación es el siguiente:



El detector PID tiene la ventaja frente al FID (más comúnmente usado) de ser un detector no destructivo, con lo que permite ser conectado en serie con otros como el mismo FID, TCD... (Salvi y col.,1997). La energía de ionización de la lámpara UV puede ir desde 8,3 eV hasta 11,7 eV. Las lámparas con valores inferiores de energía de ionización, tienen una mayor sensibilidad, pero sin embargo, los compuestos cuyo potencial de ionización esté por encima darán respuestas no lineales, las cuales pueden ser positivas a bajas concentraciones y negativas cuando los electrones emitidos son capturados, es lo que se conoce como efecto “*quenching*” (Bray y col., 1992).

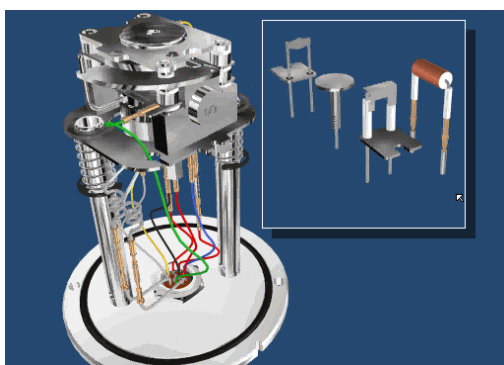
Se ha optado por una opción intermedia, y la lámpara que se ha probado tenía una energía de ionización de 10,6 eV. Sin embargo, los compuestos de interés en este estudio tienen potenciales mayores de 12 eV, a excepción del SH<sub>2</sub> y el NO<sub>2</sub>.

CH <sub>4</sub>	CO	H <sub>2</sub> S	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> O	NO <sub>2</sub>	SO <sub>2</sub>
12,6	14,013	<b>10,4</b>	13,769	12,894	<b>9,79</b>	12,34

**Tabla M10: Potenciales de ionización.**  
(Handbook of Chemistry and Physics. CRC PRESS 61<sup>st</sup> EDITION. 1980-81.)

Teniendo en cuenta lo dicho hasta el momento, los únicos compuestos detectables mediante un PID de estas características y que producen una respuesta lineal y por lo tanto perfectamente cuantificable, son el  $\text{SH}_2$  y el  $\text{NO}_2$  (éste último presentará problemas de retención con el homopolímero de divinilbenceno -fase estacionaria- que serán comentados más adelante).

El detector de **MASAS** (MS) tiene su fundamento en la fragmentación de la molécula que se va a analizar (bien sea por un chorro de electrones, bien por ionización química, tanto positiva como negativa). La misma molécula siempre romperá del mismo



**Figura M6: Fuente de impacto electrónico del detector de MS.**

modo si utilizamos la misma fuente de fragmentación, ya que siempre tendrá el mismo tipo de fuerzas de enlace. El detector hace una clasificación y recuento de los fragmentos obtenidos, y esta información se recoge en lo que se conoce como espectro de masas, y que consiste en la representación de la relación masa/carga frente a la abundancia de cada fragmento.

Se obtienen mejores resultados con el MS que con los anteriores detectores, pues se consigue determinar un mayor número de compuestos de interés, cuya respuesta es lineal y por lo tanto perfectamente cuantificable (Talasek y col., 1992; Jones y col., 1995). Además, permite identificar con total seguridad, tanto los gases para los que está pensado el método como otros posibles volátiles que puedan aparecer, sin estar previsto, a lo largo del estudio (mediante la comparación de espectros obtenidos con los almacenados en la bibliotecas Wiley y Nist). Otro factor a tener en cuenta es la comodidad de no tener que disponer de más de un detector, añadido a las ventajas económicas que suponen el uso de un sólo detector y una sola columna. Además, la posibilidad de selección de masas permite separar picos de compuestos que en principio podían aparecer solapados, y por otra parte hace factible el disminuir notablemente los límites de detección. Por todo esto, se considera el MASAS el detector de elección para llevar a cabo las medidas de campo y los ensayos del laboratorio que van a ser objeto de este estudio.

### VI.7.c.- Elección de las condiciones del detector de masas:

Los parámetros propios del detector dependerán de las condiciones del equipo en cada momento del estudio. Previamente, se deberá hacer una calibración del equipo, para ello éste tiene un reservorio de heptacosá (perfluorotributilamina) que servirá como patrón de referencia.

Sin embargo lo que es necesario fijar son las condiciones de detección (Poli y col., 1999). Para ello sirve de gran utilidad la información de las bibliotecas de espectros del software del equipo. Se han buscado los espectros de cada una de los gases que interesan en este trabajo, y a partir de ello se han conocido las masas de los fragmentos más abundantes a los cuales van a dar lugar. (En las figura 8-14 se pueden ver los espectros de los gases invernadero extraídos de la biblioteca Wiley).

<b>CH<sub>4</sub></b>	<b>16, 15, 14, 13</b>
<b>CO</b>	<b>28, 12, 29, 30</b>
<b>H<sub>2</sub>S</b>	<b>34, 32, 33, 36</b>
<b>CO<sub>2</sub></b>	<b>44, 16, 12, 13</b>
<b>N<sub>2</sub>O</b>	<b>44, 30, 28, 16</b>
<b>NO<sub>2</sub></b>	<b>30, 46, 16, 14</b>
<b>SO<sub>2</sub></b>	<b>64, 48, 32, 16</b>

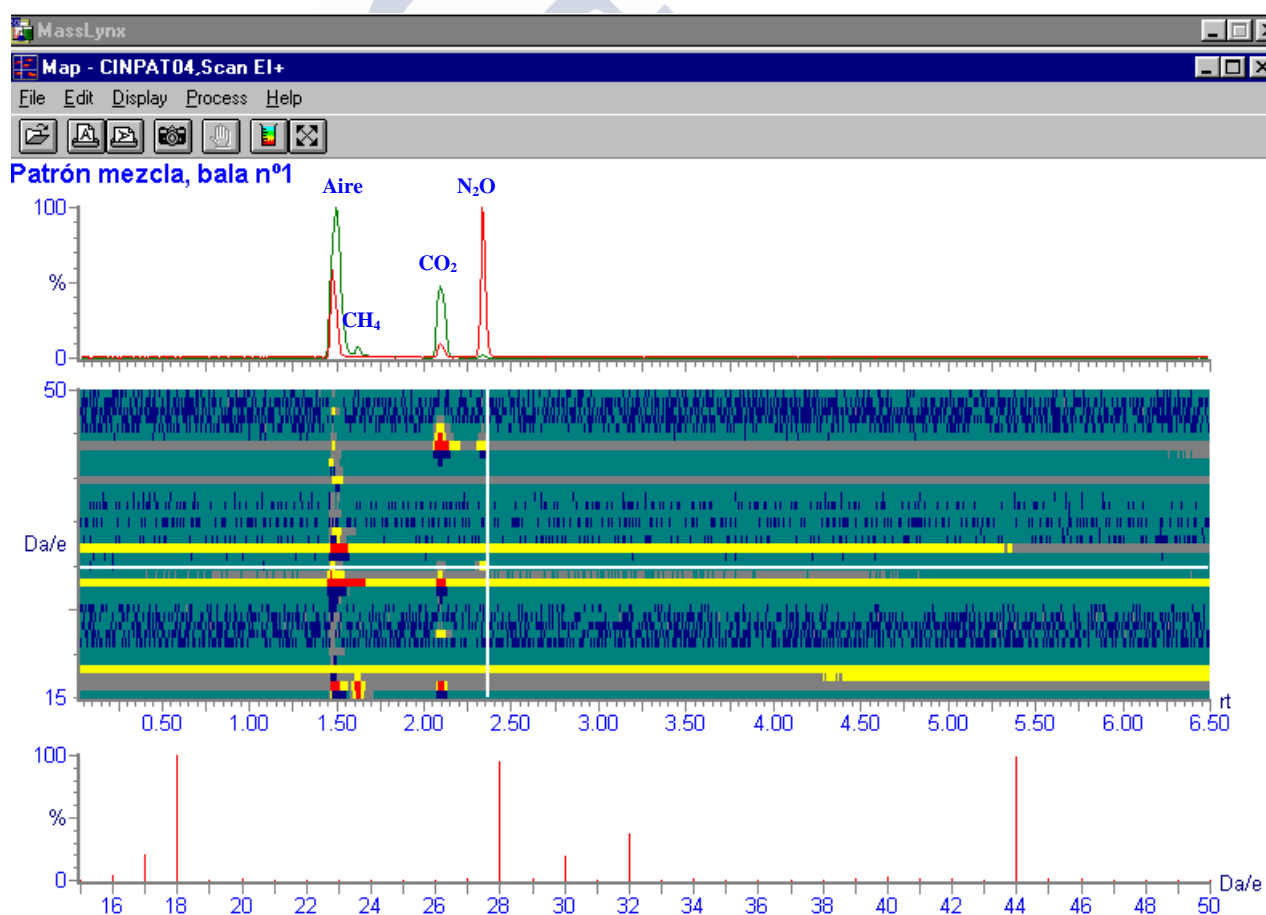
**Tabla M11: Masas de los principales fragmentes de cada compuesto.**

En la tabla anterior aparecen por orden de abundancia, los fragmentos más importantes a que dan lugar los gases que van a formar parte de este estudio. En todos los casos, excepto el NO<sub>2</sub>, la masa mayoritaria es la que corresponde al peso molecular, es lógico, debido al pequeño tamaño de estas moléculas. Están en negrita, las masas que van a ser utilizados para identificar y cuantificar cada uno de los analitos. Se han elegido en base a la abundancia y a la especificidad, por ejemplo, la masa 16 es la más abundante para el metano, pero aparece también en los espectros del CO<sub>2</sub> y del propio O<sub>2</sub> del aire, sin embargo la masa 15 siendo menos abundante es más específica; el mismo caso es el del N<sub>2</sub>O y la masa 30.

Existirán dos posibilidades de realizar la detección por espectrometría de masas en el análisis cromatográfico:

- 1) “FULL SCAN”: se efectuará un barrido completo desde la masa 12 hasta la 300, cada barrido durará 0.45 sg y el tiempo interscan es 0.05 sg.
- 2) “SIR”: se obtendrá tan sólo información de aquellas masas que se hayan sintonizado (En los muestreos: 15, 16, 28, 30, 32, 34 y 44). De este modo se gana en sensibilidad, aunque a costa de perder información adicional

Se elegirá uno u otro modo, dependiendo si se conoce la composición de la muestra y se quiere ganar sensibilidad (“SIR”), o si existen sospechas o posibilidades de que haya presente algún compuesto no identificado (“FULL SCAN”).



**Figura M7:** Mapa obtenido a partir del procesamiento, con el Masslynx, de un cromatograma de una mezcla de patrones en “full scan” (cromatograma verde). La cruz blanca corresponde al punto elegido en ese momento: el cromatograma rojo resulta de la sintonización de la masa 30, mientras el espectro corresponde al pico del tiempo de retención del N<sub>2</sub>O.

## Espectros de la biblioteca Wiley



Entry No. 4 of 139859 Library Name: WILEY  
Name: METHANE Mol Wt: 16  
CAS: 74-82-8 Formula: CH<sub>4</sub>

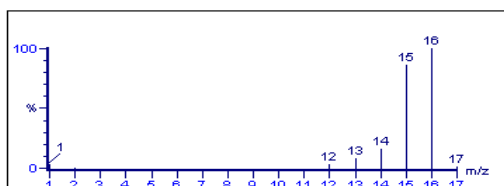


Figura M8



Entry No. 47 of 139859 Library Name: WILEY  
Name: HYDROGEN SULFIDE (H<sub>2</sub>S) Mol Wt: 34  
CAS: 7783-06-4 Formula: H<sub>2</sub>S

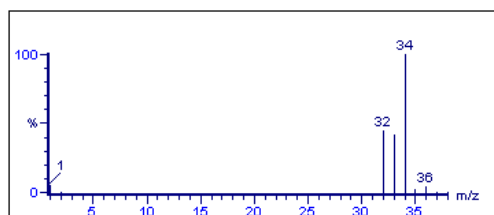


Figura M9



Entry No. 18 of 139859 Library Name: WILEY  
Name: CARBON MONOXIDE Mol Wt: 28  
CAS: 630-08-0 Formula: CO

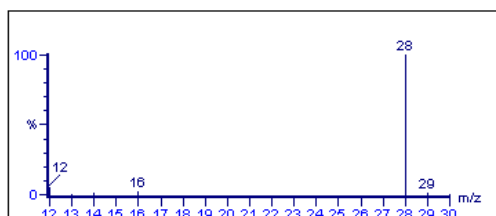


Figura M10

Optimización del método analítico.-

Entry No. 70 of 139859 Library Name: WILEY  
Name: CARBON DIOXIDE Mol Wt: 44  
CAS: 124-38-9 Formula: CO<sub>2</sub>

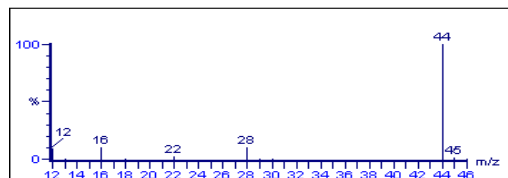
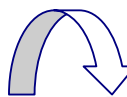


Figura M11



Entry No. 81 of 139859 Library Name: WILEY  
Name: NITROGEN OXIDE (N<sub>2</sub>O) Mol Wt: 44  
CAS: 10024-97-2 Formula: ON<sub>2</sub>

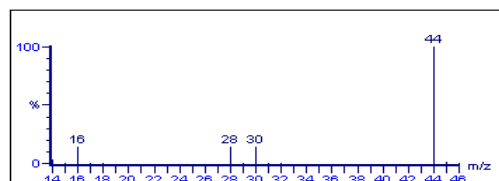


Figura M12



Entry No. 248 of 139859 Library Name: WILEY  
Name: SULFUR DIOXIDE(DOT) Mol Wt: 64  
CAS: 7446-09-5 Formula: O<sub>2</sub>S

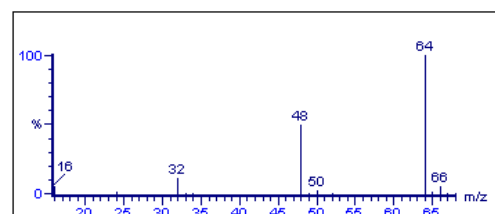


Figura M13



Entry No. 98 of 139859 Library Name: WILEY  
Name: NITROGEN OXIDE (NO<sub>2</sub>) Mol Wt: 46  
CAS: 10102-44-0 Formula: O<sub>2</sub>N

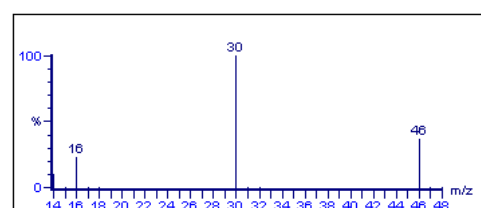


Figura M14

#### IV.7.d.- Elección del programa de temperaturas:

Se han realizado distintas tentativas con diferentes programas de temperaturas. La elección suponía un compromiso entre una eficaz resolución de los componentes y el tiempo y coste del análisis.

Con el fin de separar la mezcla de gases de la botella-patrón nº1, inicialmente se probó con el siguiente programa de temperaturas: 50°C durante 10 min, incrementar después la temperatura a una velocidad de 10 °C/min hasta alcanzar 200°C, y mantener este valor durante otros 10 min.

Como la resolución de los picos no era satisfactoria, se intentó sucesivamente con temperaturas iniciales menores: 40°C, 35°C, e incluso todavía menores (Bray y col., 1992), con ayuda del accesorio criogénico: 30°C, 20°C y 10°C. A medida que se disminuye la temperatura inicial del análisis, la separación de los componentes mejora, identificándose (mediante la comparación de los espectros de masas obtenidos, con los almacenados en las bibliotecas Wiley y Nist) sucesivamente:

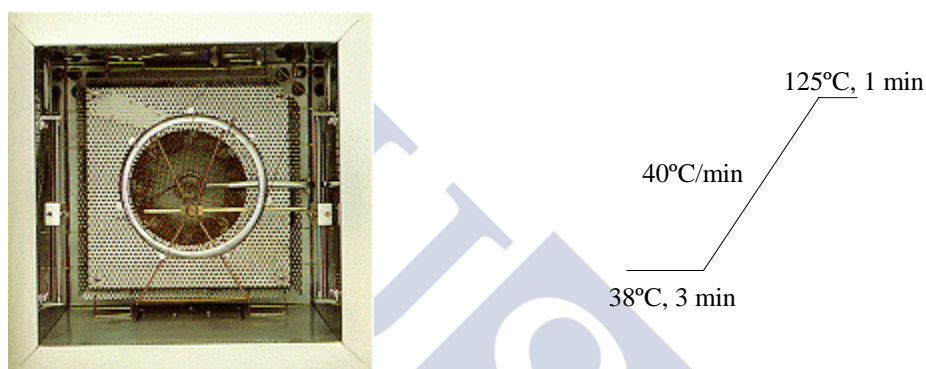
- 1) CO + N<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>
- 2) CH<sub>4</sub>
- 3) CO<sub>2</sub>
- 4) N<sub>2</sub>O
- 5) H<sub>2</sub>O

Sin embargo, el NO<sub>2</sub> no se detecta. Se han probado otras velocidades de rampa, e incluso una isoterma y no se ha solucionado el problema. Es posible que la causa esté en la facilidad del NO<sub>2</sub> para reaccionar con varios polímeros porosos como el divinilbenceno (incluyendo el Porapak Q y Chromosorb) haciendo imposible la determinación de este analito con este tipo fases estacionarias (Talasek y col., 1992, Bulycheva y col., 1995).

Por más que se haga descender la temperatura inicial del análisis, no se logra separar el monóxido de carbono de la mezcla de nitrógeno y oxígeno molecular. Seguramente sería necesario utilizar temperaturas subambiente mucho menores (Reid y col., 1993; Armstrong y col., 1994), que se conseguirían gracias al chorro de dióxido de carbono que el accesorio criogénico vierte en el interior del horno cromatográfico. Sin embargo, además de lo costosa que es esta técnica, habrá que tener en cuenta las posibles solidificaciones que pueden tener lugar a tan bajas temperaturas (por ejemplo del agua) y que pueden dar problemas en el

interior de la columna. Incluso, no es muy probable que se vaya a encontrar CO en las muestras que van a formar parte de este trabajo.

Se adopta una solución de compromiso, teniendo en cuenta, una resolución de los picos aceptable, el mínimo tiempo de análisis (que debe ser suficiente para que no se quede retenido en la columna ningún componente), y el costo que supondrá, debido al gran número de muestras que se prevé estudiar.



**Figura M15: Horno del GC-MS con el programa de temperatura definitivo.**

Sin embargo en determinados momentos del trabajo será conveniente hacer ensayos prolongando el análisis hasta temperaturas mayores (incluso hasta los 300°C) debido a la sospecha de existencia de otras sustancias.

#### **IV.7.e.- Elección de la temperatura del bloque de inyección:**

En cromatografía gaseosa tradicional éste es un parámetro primordial, ha de tener un valor lo suficientemente elevado para producir la volatilización total de la muestra (líquida) inyectada. Sin embargo, al trabajar con “Head Space” este principio no tendrá validez, pues la muestra inyectada ya estará en estado gaseoso (además, serán gases permanentes los protagonistas de este trabajo) con lo cual se eliminarán los problemas consecuentes a una temperatura elevada en el bloque de inyección como por ejemplo los sangrados del septum.



Sin embargo se han hecho pruebas con diferentes valores de temperaturas en el bloque de inyección: 38°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C. Al fin se ha decidido por fijar este parámetro en 70°C, teniendo en cuenta que no son necesarias temperaturas más altas para la volatilización de la muestra (pues ésta ya es inyectada en estado gas) y otras temperaturas más bajas que se han probado no han supuesto ninguna ventaja en la resolución de los cromatogramas y sin embargo el cromatógrafo tiene dificultades para mantenerlas estables o cuando menos tarda más tiempo en alcanzar esos valores.

#### IV.7.f.- Elección del “split”:

En un análisis cromatográfico, trabajar con cierta razón de “split” (1:X) supondrá una división del flujo (por cada parte que entrará dentro de la columna, X saldrán al exterior). De este modo se consigue estrechar los picos del cromatograma, y por tanto se consigue una mejor resolución. Sin embargo, parte de la muestra se estará perdiendo, así que a costa de disminuir la anchura de los picos se estará disminuyendo la sensibilidad.

Cuando las cantidades de los compuestos a analizar son muy pequeñas, convendrá cerrar la válvula de “split” un cierto tiempo durante el cual la totalidad de la muestra entrará en la columna, después se abrirá y se producirá la consecuente división de flujo, es lo que se conoce como “split/splitless” (Salvi y col., 1997).

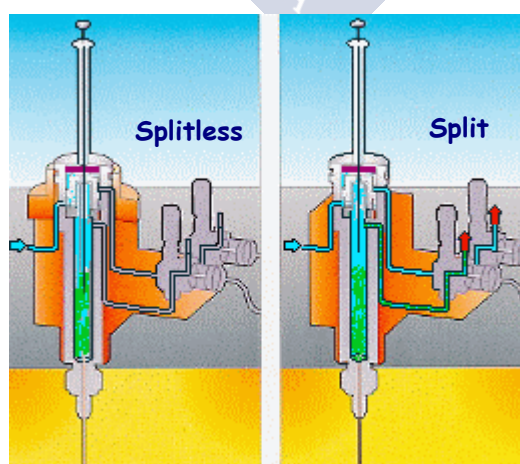


Figura M16: Sistema de inyección “split/splitless”.

Para este trabajo se ha experimentado con distintas razones de “split”: 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, e incluso cerrando las válvulas, la de “split” y la de purga del septum, durante cierto tiempo (“splitless” 30 sg + “split” 1:20). Se ha decidido por una solución de compromiso: aquella que con una resolución aceptable no empeore mucho la sensibilidad, ya que durante el estudio será necesario medir mínimas concentraciones de gases desprendidos. Así se opta por una razón de “split” 1:20, y por mantener ambas válvulas permanentemente abiertas durante todo el análisis.

#### **II.7.g.- Elección del volumen de inyección**

Generalmente, en cromatografía de gases, los volúmenes de muestra (líquida) inyectados han de ser muy pequeños (generalmente del orden de  $\mu\text{L}$ ), pues se producirá su volatilización en el bloque de inyección con el consecuente aumento de volumen que supone el paso de líquido a gas y un excesivo volumen produciría una sobrepresión que no es ningún caso deseable. Sin embargo, la situación cambia cuando utilizamos “Head Space”, ya que la muestra que va a ser inyectada ya está en estado gaseoso y por tanto su volumen es mayor que en el caso anterior (del orden de mL).

La jeringa hermética que posee el inyector automático del espacio de cabeza, tiene una capacidad máxima de 2.5 mL. Se le indicará un volumen de llenado de 1 mL, y se hacen varios intentos con distintos volúmenes de inyección: 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, y 0.5 mL. Se observa que a medida que la cantidad inyectada es mayor, mejora la sensibilidad pero empeora la resolución de los picos, se considera como la mejor opción un volumen de inyección igual a 0.2 mL.

#### **IV.7.h.- Análisis del $\text{SH}_2$ (bala-patrón n°2):**

Se han llevado a cabo numerosas pruebas con el fin de tratar de mejorar el pico correspondiente al  $\text{SH}_2$ . Así, se han probado distintas velocidades en los programas de temperatura (40  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  ó 20  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ), dos rampas con diferentes velocidades, incluso dos rampas con una isoterma entre ellas (temperaturas de la isoterma: 50  $^{\circ}\text{C}$ , 55  $^{\circ}\text{C}$  ó 60  $^{\circ}\text{C}$ ). También se ha probado a inyectar distintos volúmenes (desde 0.2 hasta 0.8). Sin

embargo la mejoría no fue tan significativa como para modificar el método. Además sintonizando las masas características se puede apreciar perfectamente, y todavía mejor inyectando en modo SIR.

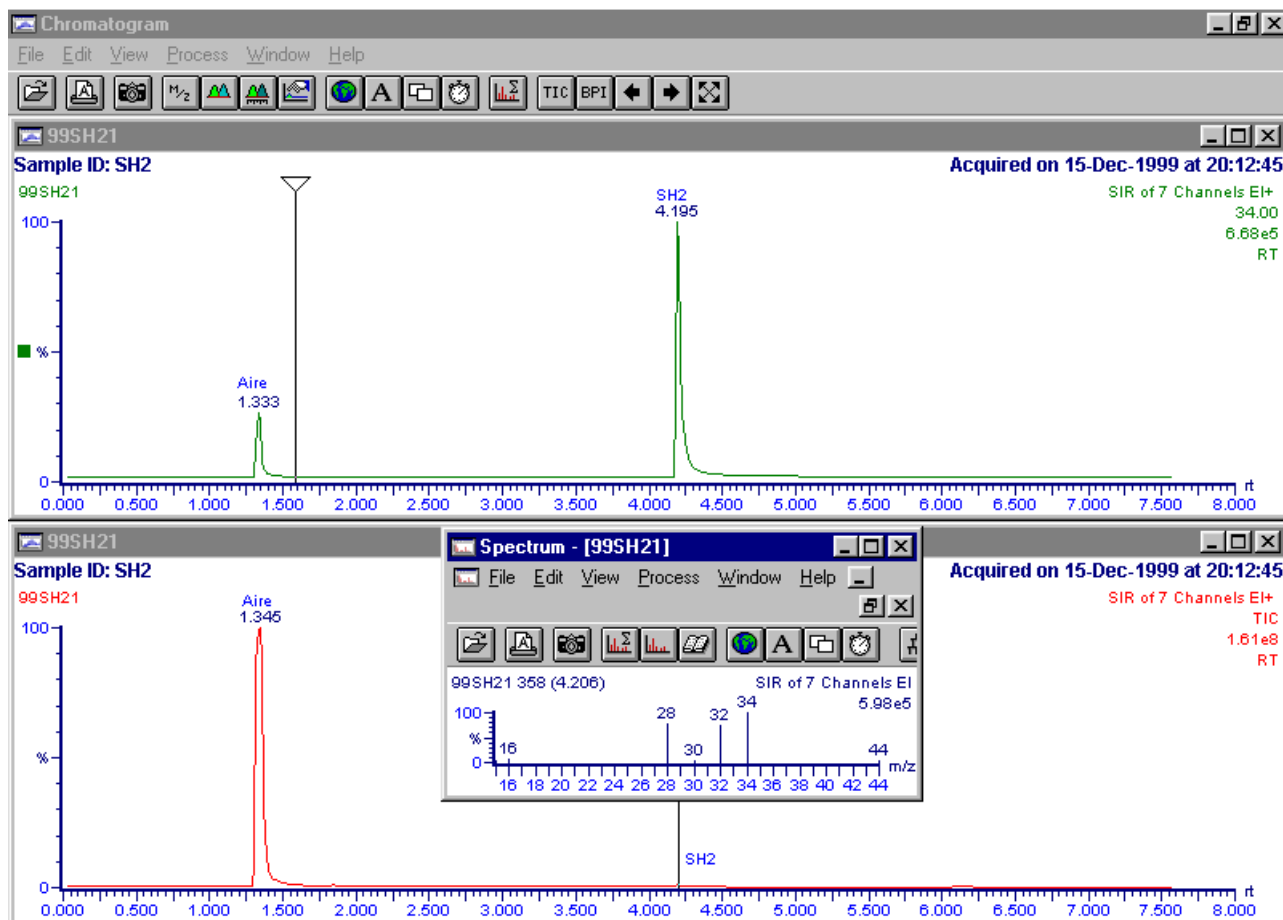


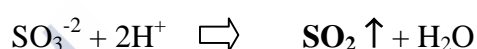
Figura M17: Análisis de la bala-patrón n°2 en modo SIR (cromatograma rojo). Sintonización de la masa 34 para ver el SH<sub>2</sub> (cromatograma verde). Espectro correspondiente al SH<sub>2</sub>

#### IV.7.i.- Análisis del SO<sub>2</sub> (bala-patrón n°3):

Se ha procedido a hacer los mismos ensayos que en el caso anterior: distintos programas (que se prolongaban a temperaturas todavía más altas), distintos volúmenes de inyección (desde 0.2 hasta 2 mL), inyecciones con “splitless” durante cierto tiempo... Incluso se ha probado a introducir el gas patrón tras hacer vacío en el vial en lugar del llenado de agua (ver el apartado de “manejo y transporte de gases”), por si el problema estaba en que el SO<sub>2</sub> reaccionase con el H<sub>2</sub>O. Sin embargo los resultados no han sido satisfactorios, ni siquiera inyectando en modo SIR (sintonizando las masas características: 64 y 48) conseguimos ver el

pico correspondiente al SO<sub>2</sub>. En las propias especificaciones de la columna se indica la validez para el análisis de compuestos gaseosos, también los derivados del azufre, sin embargo, se mencionan problemas con el SO<sub>2</sub>. (Catálogo J&W, Souza, 1993).

Se ha hecho a mayores, otro ensayo, para comprobar si era posible ver cantidades mayores de este compuesto. Para ello se han pesado 2 mg ( $\pm 0.1$ ) de sulfito sódico e introducido en un vial del espacio de cabeza. Sobre él se han añadido 5 mL de ácido ortofosfórico al 4.5 % en agua y de inmediato, se cierra herméticamente el vial y se introduce durante 1 hora en una estufa a 80 °C. Durante este tiempo:



Se procede después a hacer el análisis cromatográfico del espacio de cabeza del vial. Se hacen varios ensayos con distintas condiciones (ya probadas anteriormente con el gas de la botella patrón, sin éxito). Se consigue ver el pico correspondiente al SO<sub>2</sub> con las siguientes condiciones:

Injectando 0.2 mL (procedentes espacio de cabeza del vial) en modo “splitless” (30 sg) y después con razón de “split” 1:20. La temperatura del inyector es 70 °C y el programa del horno empieza desde 38°C, donde se mantiene durante 5 minutos, y después asciende con gradiente lineal y velocidad de 10 °C/min hasta 200 °C. Extrayendo las masas características (64, 48) después de hacer un barrido completo (“FULL SCAN” de 12 a 300), se ve perfectamente el pico correspondiente al SO<sub>2</sub> con un tiempo de retención de 10.95 min. Se confirma por comparación del espectro con los almacenados en las bibliotecas Wiley y Nist.

Se han hecho distintas inyecciones variando el tiempo de acondicionamiento del vial a 80°C, para tener la certeza de que éste es suficiente para transformar todo el sulfito a SO<sub>2</sub>. Teniendo en cuenta la estequiometría de la reacción, se ha calculado que, la concentración en el espacio de cabeza es aproximadamente 67.7 mg de SO<sub>2</sub> por litro de aire, es decir, habrá 2.35 moles SO<sub>2</sub>/100 moles de aire. La botella de gas patrón tenía 182 moles SO<sub>2</sub>/1000000 moles de aire (182 ppm), es decir que ahora se ha conseguido una concentración del orden de 130 veces mayor. Parece que el límite de detección sería del orden de 0.2% (2000 moles SO<sub>2</sub>/100 moles de aire), es decir, concentraciones 10 veces mayores que la de la botella patrón.

#### **IV.7.j.- Manejo y transporte de gases:**

A la vista de los resultados obtenidos a partir del ANOVA, se concluye que las diferencias entre los dos métodos testados (vacío y llenado/vaciado con agua) no son significativas, así como tampoco son significativas las diferencias debidas al número de llenados de gas que se efectúen. Por ello, se ha optado por la utilización del método consistente en hacer un prellenado de los viales con agua y después una sola inyección con gas. Es más cómodo, rápido, y más factible para llevar al lugar de toma de muestras. De todos modos se harán las debidas correcciones con los resultados, teniendo en cuenta el 5% de CO<sub>2</sub> residual que se ha confirmado que queda en cada vial.

En cuanto a la posibilidad de que parte de gas se diluya en el agua durante la operación de llenado, se puede afirmar que los 100 mL de gas procedentes de la jeringa, frente a los 20 mL de agua que contendrá el vial, serán más que suficientes para superar los niveles de saturación de los compuestos gaseosos disueltos y completar el llenado del vial.

#### **IV.7.k.- Calibración:**

Preparar diluciones de gases es una cuestión complicada (Talasek y col., 1992; Souza, 1993; Poli y col., 1999), primero, porque los gases tienden a ocupar el mayor volumen posible, así que una vez que se extraiga una cantidad de un vial, el gas restante tratará de ocupar la totalidad del volumen y las condiciones de presión habrán cambiado. Es por esto, que cada vez que se quiere conseguir una concentración más diluida, es necesario repetir todos los pasos desde el llenado del vial sin diluir. Por el mismo motivo, no se deben hacer dos pinchazos del mismo a la hora de comprobar la reproducibilidad del método. Otro problema a tener en cuenta es la manera de trasvasar una cantidad precisa de gas desde un vial a otro. Es necesario una jeringa de características especiales que asegure la hermeticidad. Se ha utilizado una similar a la del módulo de espacio de cabeza.

Además los viales donde se hagan las diluciones, han de ser llenados previamente con un gas inerte –nitrógeno- siguiendo el método descrito para el transporte de gases (primero se llenan de agua destilada, y después, mediante una jeringa de 100 mL con nitrógeno y gas con una aguja de entrada y otra de salida). Seguidamente será necesario extraer un volumen de

nitrógeno igual al que vamos a verter de patrón. De esta manera nos aseguramos las mismas condiciones que cuando no hemos diluido.

Es importante que antes de extraer (o verter) una cantidad de un vial con la jeringa, y una vez se haya atravesado el “septum” con la aguja, se suba y se baje el émbolo varias veces (como hace el módulo de espacio de cabeza), así será mayor la probabilidad de estar cogiendo una muestra homogénea, y en el caso de estar introduciendo un volumen de gas, se estará favoreciendo su difusión y mezcla con el contenido del vial. Además, y por este mismo motivo, se debiera agitar los viales unos segundos entre paso y paso de una misma dilución.

En el caso particular del  $\text{SH}_2$ , y debido a las limitaciones mencionadas a la hora de preparar las diluciones, no es posible construir una recta de calibración de más de dos puntos (los correspondientes a 200 y 20 ppm ponderales). La siguiente concentración que se obtiene es 2 ppm, que ya se encuentra por debajo del límite de detección. Sin embargo, se puede apreciar que el área correspondiente al pico del patrón sin diluir es del orden de 10 veces mayor que el correspondiente a la dilución, por lo que se puede suponer, tal y como cabía esperar, una respuesta lineal.

#### **IV.7.1.- Precisión y Límites de detección:**

Las múltiples técnicas utilizadas por distintos autores para identificar y cuantificar gases inorgánicos, poseen mayor sensibilidad cuanto mayor sea su especificidad para un determinado tipo de compuesto. Así, por ejemplo con detectores de quimioluminiscencia para el azufre -SCD: Sulfur Chemiluminescence Detector- (Wang y col., 1998) o fotométrico de llama -FPD: Flame Photometric Detector- (Souza, 1993) se consiguen límites de detección muy bajos para compuestos volátiles de azufre. Lo mismo sucede cuando se utilizan el detector de captura de electrones -ECD: Electron Capture Detector- para la determinación de óxidos de nitrógeno (Kumagai y col. 1999) o el detector de ionización de llama -FID: Flame Ionization Detector- para los hidrocarburos como el metano (Upstall-Goddard y col., 1996). Diferente es el caso del detector de termconductividad -TCD: Thermal Conductivity Detector- (Wang y col., 1998), que por no ser un detector específico es válido para determinar un mayor número de sustancias pero los límites de detección que se consiguen son peores, aunque se mejoran notablemente con el micro-TCD (Salvi y col., 1997). En cuanto al detector

de fotoionización -PID: Photo-Ionization Detector- su sensibilidad aumenta cuando la energía de ionización de la lámpara UV es menor, claro que los compuestos cuyo potencial de ionización esté por encima no tendrán una respuesta lineal y por tanto no podrán ser cuantificados (Bray y col., 1992). El MASAS es un detector universal, por lo que tiene la ventaja de conseguir determinar un mayor número de compuestos, pero en principio los límites de detección que se consiguen serán mayores que los de otros detectores específicos (Jones y col., 1995). Sin embargo, dada la posibilidad de realizar análisis sintonizando una o un número de masas específicas (modo SIR), se consigue llegar a determinar cantidades que llegan incluso hasta los 0,39 µg/L en el caso del N<sub>2</sub>O y en el peor de los casos a los 9,3 µg/L para el SH<sub>2</sub>. Estos límites de detección son mejores que los encontrados para la utilización de GC-MS, en la bibliografía consultada (Talasek y col., 1992; Poli y col., 1999).

En cuanto a la precisión, conviene señalar que se obtienen desviaciones estándar en tanto por cien (RSD), que van desde 1,60 % hasta 6,94 %, y que se consideran perfectamente admisibles dado que se está trabajando con cromatografía de gases, y que el sistema de manejo y transporte de gases propuesto, nunca será tan preciso como cuando se preparan en el laboratorio disoluciones comunes de líquidos. En la bibliografía consultada se encuentran valores de RSD del mismo rango, 2,3-9,4 % (Bray y col., 1992) ó 3-13 % (Poli y col., 1999), cuando no peores (RSD=20 %, Bulycheva y col., 1995).





## **V.- EXPERIENCIAS DE LABORATORIO.-**

### **V.1.- Objetivo.-**

El objetivo primordial es construir modelos que permitan simular la emisión de gases invernadero como consecuencia del cambio climático global. Mediante el estudio de la liberación de dichos gases por suelos con diferente contenido en materia orgánica en distintas condiciones de temperatura y humedad, se pretende llegar a poder predecir la emisión de gases invernadero, en condiciones climáticas conocidas y para un suelo de características determinadas.

### **V.2.- Reactivos utilizados.-**

- ✓ HCl del 37%, PA (para análisis-ACS-ISO). Panreac, 131020.
- ✓ BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, PA (para análisis-ACS-ISO). Panreac, 131182.
- ✓ NaOH, PRS (purísimo). Panreac, 141687.
- ✓ Helio N-50, suministrado por la Sociedad Española de Oxígeno.
- ✓ Agua desmineralizada, calidad Milli-Q (Millipore Corporation).
- ✓ Patrones de los gases, preparados por la Sociedad Española de Oxígeno. Descritos en el apartado I.2.

### **V.3.- Material e instrumentación.-**

- ✓ Frascos de vidrio de cierre herméticos (1 L de capacidad).
- ✓ Viales de plástico
- ✓ Cilindros de polipropileno y sistemas anticondensación.
- ✓ Gomas elásticas.
- ✓ Parafilm ®.
- ✓ Balanza precisa 600 C (Swiss Quality).
- ✓ Estufas HOTCOLD P-SELECTA (0 –90 °C).
- ✓ Valorador automático: CRISON Compact Titrator.
- ✓ Cromatógrafo de gases GC 8000 series (Fisons) con presión digital y regulador de flujo DPFC 800, y módulo Head Space Autosampler HS 850. Columna capilar

GS-Q, (J&W Scientific, 30 m x 0.32 mm x 0  $\mu$ m) y detector de espectrometría de masas MD-800 con fuente de Impacto Electrónico.

- ✓ Ordenador personal con el software Pentium Digital Venturis (Digital Equipment Corporation), con 24,0 MB de memoria RAM en entorno Windows 95
- ✓ Software de adquisición de datos (MS) MASSLAB versión 1.4.
- ✓ Software de adquisición de datos (MS) MASSLYNX versión 2.0.
- ✓ Bibliotecas de espectros Wiley y Nist.
- ✓ Hoja de cálculo Excel 7.0 de Microsoft Office 97.
- ✓ SPSS (versión 9.0) y STATISTICA (versión 4.5) para Windows para el tratamiento estadístico de los datos.

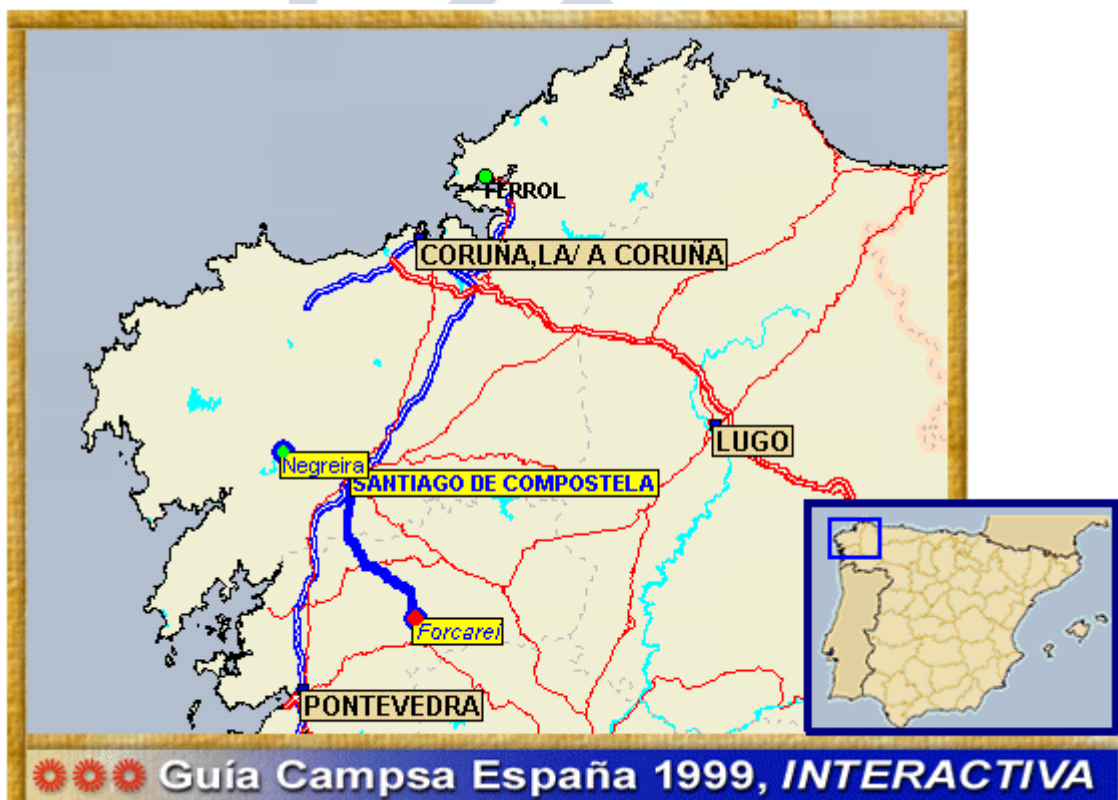
#### **V.4.- Suelos objeto de estudio.-**

Se ha intentado seleccionar tres suelos que, perteneciendo a zonas geográficas cuyas condiciones climáticas sean semejantes, difieran en su contenido en materia orgánica.

1. **Suelo de ROBEDAL:** recogido en el lugar de Carballeira, del municipio de FORCAREI en la provincia de Pontevedra, a una altitud de 645 m. Las coordenadas de localización son: 8° 21' 30'' W 42° 36' 58'' N, situadas en hoja 153-I (Codeseda) del Mapa Topográfico Nacional de España, escala 1:25000, en la cual se localiza dicho punto geográfico.
2. **Suelo de PRADO:** recogido en el lugar de Cabanas, municipio de Negreira, en la provincia de A Coruña, a una altitud de 320 m, correspondiendo a tal lugar las coordenadas: 8° 42' 30'' W 42° 59' 00'' N, tomadas éstas en la hoja 94-I (A Baña) del Mapa Topográfico Nacional de España, escala 1:25000
3. **Suelo de cultivo de PATATA:** recogido en el lugar de Cabanas, municipio de Negreira, en la provincia de A Coruña, a una altitud de 330 m. Dicho lugar se encuentra en las coordenadas: 8° 42' 35'' W 42° 59' 10'' N; de la hoja 94-I (A Baña) del Mapa Topográfico Nacional de España, escala 1:25000, en la cual se localiza dicho punto geográfico.

La recogida de los suelos tuvo lugar, para el suelo de Forcarei el 27 de Enero de 1998 y para los suelos de patatal y de prado el 21 de Septiembre de 1998, a primera hora de la mañana, siempre después de varios días sin precipitaciones con el fin que la humedad fuese baja y permitiese la adición de agua para alcanzar los niveles de humedad queridos.

Los muestreos se realizaron en diferentes puntos de la zona, hasta una profundidad de 10 cm después de haber retirado la capa de hojarasca sin descomponer y de fôrna. En el mismo lugar de muestreo se guardaron en bolsas isotérmicas de polietileno, para ser trasladados al laboratorio. Una vez allí se pasaron todos los suelos por un tamiz de 4 mm, y después se homogeneizaron. Una parte del suelo se mantuvo en la nevera a 4°C hasta el momento de comenzar las experiencias de incubación, y el resto se secó al aire y se utilizó para los análisis generales.



**Figura L1:** Localización geográfica de los municipios de Negreira y Forcarei, donde están situadas las áreas de muestreo en las que se ha recogido el suelo para realizar las experiencias de laboratorio.

## **V.5.- Diseño experimental.-**

Consiste básicamente en la cuantificación de la emisión de gases invernadero a partir de tres tipos de suelos con diferente contenido en materia orgánica, que permanecerán en cinco niveles diferentes de humedad y habrán sido sometidos a distintas condiciones de temperatura (10, 15, 20, 25, 30 y 35°C). Las combinaciones resultantes ( $3 * 5 * 6 = 90$ ) se mantendrán en condiciones de incubación durante 6 semanas, a lo largo de las cuales se determinan los gases liberados.

## **V.6.- Métodos analíticos.-**

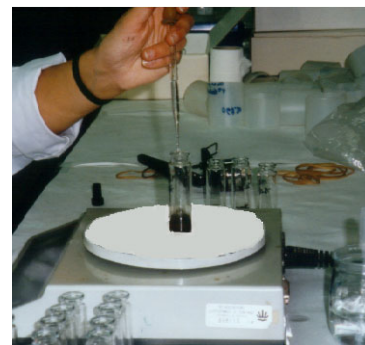
- *Análisis gas-cromatográfico mediante espacio de cabeza y detección de masas (HSGC-MS).*- Las muestras de suelo habrán permanecido en un vial convenientemente cerrado, en unas condiciones determinadas (temperatura y humedad) y durante un tiempo establecido, en el transcurso del cual se va a producir la acumulación de los gases desprendidos por el suelo en el espacio de cabeza del vial. El análisis de los mismos se lleva a cabo utilizando las condiciones cromatográficas descritas en el apartado IV.4.
- *Determinación del CO<sub>2</sub> mediante valoración volumétrica por retorno.*- Antes de ser sellados los viales que contienen el suelo, habrán permanecido un determinado tiempo en condiciones controladas de incubación, en unos sistemas especialmente diseñados para ello y que serán posteriormente descritos con detalle. En dichos sistemas, se coloca una cantidad de NaOH que debe estar en exceso en relación al CO<sub>2</sub> (desprendido por el suelo) con el que ha de reaccionar. Transcurrido un tiempo de incubación se toman alícuotas de 2 mL de NaOH, se añade un volumen de agua destilada, 1mL de una disolución de BaCl<sub>2</sub> al 20% (para insolubilizar los carbonatos presentes) y se valora con HCl el exceso de NaOH no carbonatada. De esta manera se controla el CO<sub>2</sub> desprendido por el suelo durante el tiempo de incubación anterior al sellado de los viales.

## **V.7.- Procedimiento.-**

### **V.7.1 Montaje de una incubación:**

Para una incubación a una determinada temperatura y para cada tipo de suelo son necesarios:

- 130 viales de vidrio de espacio de cabeza (20 mL)
- 18 frascos de vidrio (1 L)
- 18 viales de plástico
- 18 sistemas anticondensación de polipropileno
- 36 cilindros de polipropileno.



**Figura L2: Adición de agua y control del nivel de humedad.**

Se pesan 2 g de suelo húmedo (consultar tabla L1 para correspondiente peso de suelo seco) en cada uno de los 130 viales de vidrio y se hacen cinco grupos de 26 viales, que corresponderán a cada uno de los niveles de humedad después de añadirles el volumen de agua necesario en cada caso (también en la tabla L1). Se etiquetan con su peso (vial + suelo + agua), nivel de humedad correspondiente y temperatura de incubación y se dejan estabilizar durante 24 horas a 4 °C. Transcurrido este tiempo, se controla el peso para comprobar que la humedad se mantiene constante, si fuese necesario se añadiría el agua perdida con una pipeta Pasteur (Figura L2).



**Figura L3: Sistema de incubación: un suelo/un nivel de humedad/una temperatura.**

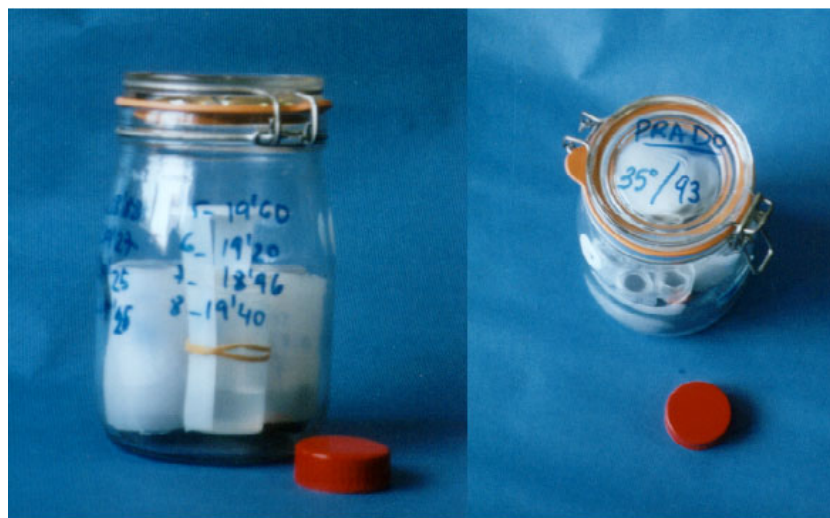
	%HUMEDAD DE CAMPO (PF <sub>2</sub> )	%HUMEDAD EN S.S. (suelo seco)	VOLUMEN DE AGUA AÑADIDA
<b>Suelo:</b>	55 %	33 %	0 µL
<b>ROBLEDAL.</b>	92 %	55 %	330 µL
<b>Cantidad:</b>	113 %	68 %	520 µL
<b>1,50 g (s.s.).</b>	142 %	85 %	780 µL
<b>PF<sub>2</sub> =60 %</b>	227 %	136 %	1540 µL
<b>Suelo:</b>	40 %	23 %	0 µL
<b>PRADO.</b>	65 %	38 %	244 µL
<b>Cantidad:</b>	79 %	46 %	375 µL
<b>1,63 g (s.s.).</b>	100 %	58 %	569 µL
<b>PF<sub>2</sub> =58 %</b>	160 %	93 %	1140 µL
<b>Suelo:</b>	64 %	27 %	0 µL
<b>PATATA.</b>	81 %	34 %	110 µL
<b>Cantidad:</b>	100 %	42 %	235 µL
<b>1,58 g (s.s.).</b>	119 %	50 %	365 µL
<b>PF<sub>2</sub> =42 %</b>	159 %	67 %	630 µL

**Tabla L1: Datos sobre la humedad de los suelos y agua que es necesario añadir.**

Los 26 viales correspondientes a un mismo nivel de humedad, 24 se distribuyen en 6 grupos de 4 (cada uno corresponde a una semana de incubación), se tapan con parafilm<sup>®</sup>, y se introducen en los cilindros de polipropileno. En un frasco de cierre hermético conteniendo 25 mL de agua destilada (para mantener una atmósfera húmeda), se colocan 2 de estos cilindros y uno de los viales de plástico con 10 mL de NaOH que actuará como cebo del CO<sub>2</sub> desprendido. (previamente se le ha colocado uno de los sistemas anticondensación que evita la caída de agua condensada sobre la NaOH). Se cierra el frasco y se lleva a una estufa HOTCOLD que estará estabilizada a la temperatura que corresponda. Como blanco se utiliza un frasco que no contiene suelo (pero sí sosa, NaOH) y que sigue el mismo proceso.

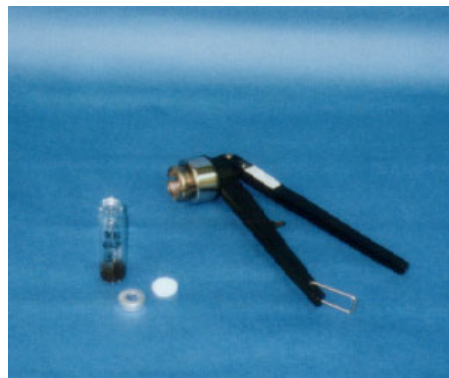
Del mismo modo, se procede con el resto de los cilindros, de manera que en total tendremos 3 frascos herméticos para cada tipo de suelo, por temperatura y humedad, cada uno se utilizará durante dos semanas de incubación (la concentración de la NaOH será diferente dependiendo del tiempo que ha de permanecer como cebo).





**Figuras L4, L5 y L6: Sistema de incubación de suelo correspondiente a una semana.**

Los dos viales (de los 26) que no se han incluido en ningún frasco, se cierran con el septum y la cápsula metálica y se llevan también a la estufa. A partir de ellos se efectuará la primera medida de gases desprendidos a las 24 horas de incubación (Figuras L7).



**Figuras L7: Vial con suelo que va a ser sellado con el encapsulador.**

### **V.7.2. Medidas periódicas de los gases:**

Transcurridas 24 horas se procede al análisis cromatográfico del espacio de cabeza de los viales sellados. En ese momento, se extraen otros dos viales de un frasco hermético (correspondiente a las 2 primeras semanas) se encapsulan, se vuelven a meter en la estufa y se analizarán por GC-MS transcurridos 3 días, al mismo tiempo que se procede al sellado de otros dos viales del frasco. El proceso se repite a intervalos de tiempo de 3/4 días. Como blanco se utilizan las medidas obtenidas al realizar el análisis cromatográfico de la atmósfera de un vial cerrado sin suelo.

Durante los 43 días que dura la incubación se hacen paralelamente determinaciones del CO<sub>2</sub> desprendido, por valoración con HCl, de la NaOH (cebo) que ha quedado sin carbonatar. Cada vez que se abren los frascos herméticos para extraer dos viales, se retira el vial con NaOH (para valorarla) y se sustituye por otro nuevo. Al mismo tiempo, la sosa de los frascos control (blancos) también se cambia.

## **V.8.- Identificación, confirmación y cuantificación.-**

### **V.8.1.- Análisis cromatográfico:**

La identificación de los distintos compuestos gaseosos desprendidos por el suelo y acumulados en el espacio de cabeza del vial, se lleva a cabo después de realizado el análisis cromatográfico por comparación de los tiempos de retención de los picos de los analitos, con los de los correspondientes en un cromatograma de un patrón que es inyectado en las mismas condiciones analíticas.

Además se confirma la identidad de cada compuesto por comparación del espectro de masas con los almacenados en las bibliotecas Wiley y Nist, cuando la similitud entre ellos es mayor del 800 % tanto en “for” como “rever”.

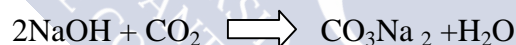
La cuantificación se realiza en base al método del estándar externo, mediante el cálculo del factor de respuesta (RF) para lo que se intercala la inyección de un patrón entre grupos de muestras no superiores a diez. (Ver apartado de experiencias de campo: VI.4).

### V.8.2. Valoración volumétrica del CO<sub>2</sub> :

Se determina, mediante “titración”, la cantidad de HCl valorado que es necesario añadir para neutralizar la NaOH que queda sin carbonatar en los viales que han sido extraídos de las incubaciones.

La “titración” consiste en la adición progresiva de pequeños volúmenes de HCl, después de una agitación previa de 10,0 s, hasta que se alcanza el punto final establecido a pH = 9,50 de una manera estable durante al menos 10,0 s.

La diferencia entre los equivalentes de HCl consumidos en las valoraciones de la muestra y los del blanco corresponde a los equivalentes de NaOH que ha sido carbonatada por el CO<sub>2</sub> desprendido durante la incubación:



Teniendo en cuenta la reacción anterior se consigue cuantificar el CO<sub>2</sub> procedente de la respiración del suelo en las condiciones del estudio.

## **V.9.- Cálculos.-**

### **V.9.1. Análisis cromatográfico:**

Una vez que han sido determinadas las concentraciones de los gases en el espacio de cabeza del vial, se calculan los mg (de cada uno de ellos) que han sido desprendidos por 100 g de suelo seco durante el tiempo que ha durado la incubación, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{mg GAS} / 100 \text{ g suelo seco} = (C_M - C_B) * (V_V - V_{sh}) * 100 / P_{ss}$$

$C_M$  = concentración del gas en la muestra (mg/L).

$C_B$  = concentración del gas en el blanco (mg/L).

$V_V$  = volumen del vial (L).

$V_{sh}$  = volumen del suelo húmedo (L).

$P_{ss}$  = peso del suelo seco (g).

### V.9.2. Valoración volumétrica del CO<sub>2</sub>:

A partir de los volúmenes de HCl gastados en la valoración de la NaOH procedente de las incubaciones, se calculan los mg de CO<sub>2</sub> que corresponden a la respiración de 100 g de suelo seco de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$\text{mg CO}_2 / 100 \text{ g suelo seco} = (V_B - V_M) * N * (P_{eq} \text{ CO}_2) * (V_t / V_v \text{ NaOH}) * (100 / (n * P_{ss}))$$

$V_B$  = volumen de HCl consumido por el blanco (mL).

$V_M$  = volumen de HCl consumido por la muestra (mL).

$N$  = normalidad exacta del HCl.

$P_{eq}$  = peso equivalente del CO<sub>2</sub> = peso molecular CO<sub>2</sub>/2 (g).

$V_t$  = volumen de NaOH en el bote de incubación (mL).

$V_v$  = volumen de NaOH valorada (mL).

$n$  = número de viales en el bote de incubación.

$P_{ss}$  = peso del suelo seco en cada vial (g).

### V.10.- Resultados.-

Se han identificado y cuantificado las cantidades desprendidas de los gases CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O, a lo largo de los 43 días de duración de cada una de las incubaciones, que se ha llevado

a cabo para cada suelo de características diferentes. En el caso de haberse desprendido otros gases tipo invernadero diferentes de los anteriores, se habría producido en cantidades inferiores al límite de detección del método para cada caso. Solamente, a mayores de lo ya mencionado, ha sido posible determinar trazas de  $\text{CH}_4$  en ciertos momentos puntuales de algunas de las experiencias.

### **V.10.1.- Diseño de incubación. Forcarei 10 y 25 °C:**

La primera tentativa de diseño de incubación difiere un poco del procedimiento definitivo que ha sido descrito anteriormente. Así, en un principio se había acordado sellar a “tiempo cero” todos los viales correspondientes a las medidas que iban a tener lugar a lo largo de los 15 días siguientes. El resto de viales sí permanecían abiertos en dos botes herméticos (con sosa) hasta pasados estos 15 días, en ese momento, se retiraban y sellaban todos los que iban a ser utilizados para las medidas de las dos semanas siguientes, es decir, se cerraban todos los viales de uno de los dos frascos y se guardaba la sosa para proceder a su valoración. Del mismo modo se procede transcurridos otros 15 días, por lo que durante toda la incubación solamente habría dos momentos de sellado de viales (en el diseño definitivo se acordó que, de manera progresiva, en el momento en que se efectuase una medida, se sellarían los dos viales correspondientes a la medida siguiente).

Siguiendo este primer protocolo ha sido incubado el suelo de Forcarei, en todos sus niveles de humedad, a las temperaturas de 10°C y 25°C. En las siguientes gráficas se pueden observar los resultados obtenidos:

- ii) Por un lado, en el conjunto de **gráficas L1-L20**, se pueden observar las cantidades de cada gas presentes en el momento de efectuar las medidas en el espacio de cabeza del vial, expresados en microgramos de  $\text{N}_2\text{O}$  / 100 g de suelo seco, o bien, miligramos de  $\text{CO}_2$  / 100 g de suelo seco. Son cantidades de gas que se han ido acumulando en el espacio de cabeza del vial y que proceden de las emisiones que han tenido lugar desde el momento en que se ha sellado ese vial, a partir del suelo allí encerrado. Ej.: las medidas efectuadas el día 11 se corresponden al gas que ha sido liberado por el suelo desde el primer día de incubación (en que se han sellado esos viales) hasta ese momento. Las flechas presentes en la zona inferior de las gráficas son indicativas del número de días que

han permanecido cerrados el primer grupo de viales. Los dos momentos en que se ha producido sellado de viales (días 15 y 29 de incubación) son señalados en las gráficas mediante líneas verticales (separan grupos de viales cerrados en días diferentes). Es importante señalar que se ha intentado mantener la misma escala para las gráficas de un mismo grupo para facilitar el examen comparativo, si bien en ocasiones resulta imposible como en el caso del  $N_2O$  en los suelos de máximo nivel de humedad, los cuales desprenderán cantidades de este gas mucho mayores que las que desprendería el mismo suelo y a la misma temperatura pero con un porcentaje de humedad menor.

- iii) Por otro lado se puede tener una idea de la variabilidad en las velocidades de desprendimiento de gases si se observan las gráficas L21-L40. Estas gráficas han sido construidas a partir de los datos de velocidades en cada momento de la incubación expresados como:

$$\frac{\mu\text{g de N}_2\text{O medidos} \quad \text{ó} \quad \text{mg de CO}_2 \text{ medidos}}{\text{días que han permanecido sellados los viales} * 100 \text{ g de ss}}$$

Aunque, con el fin de poder comprobar si existe similitud en la tendencia de variabilidad de las velocidades independientemente de la escala, es decir, independientemente de que estemos en las condiciones de mayor o menor desprendimiento, se ha acordado utilizar las velocidades relativas a la velocidad máxima de cada incubación. De esta manera se han calculado los cocientes entre la velocidad en cada momento y la velocidad máxima en esas condiciones, y se han representado los resultados en función los días de incubación. Son por tanto perfectamente comparables unos datos con otros e incluso lo van a ser con los obtenidos en las otras incubaciones que fueron llevadas a cabo con el diseño experimental definitivo.

Los dos momentos en que se ha producido sellado de viales (días 15 y 29 de incubación) es también señalado en este grupo de gráficas mediante líneas verticales (separan grupos de viales cerrados en días diferentes), mientras que con flechas azules se han destacado saltos importantes en la velocidad de desprendimiento que se creen relacionados con el modo de llevar a cabo estas primeras incubaciones.



## CO<sub>2</sub> desprendido por el Suelo de Forcarei a 10°C

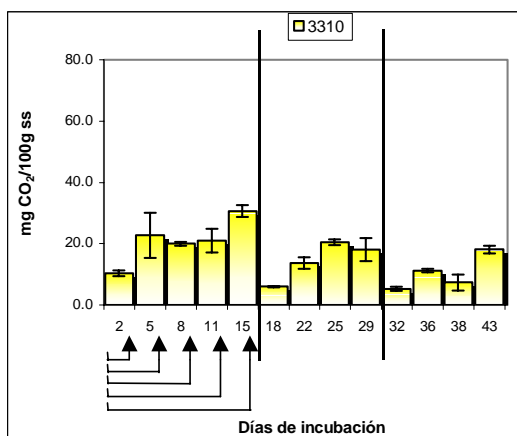


Gráfico L1

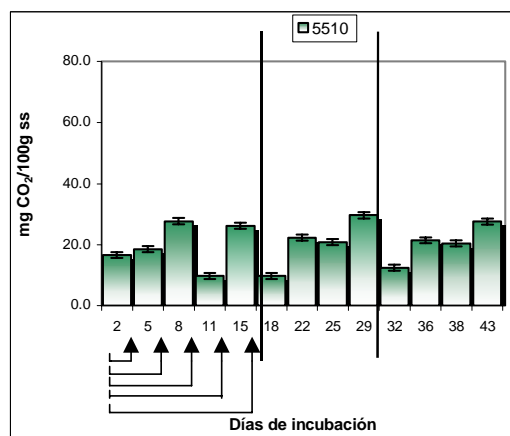


Gráfico L2

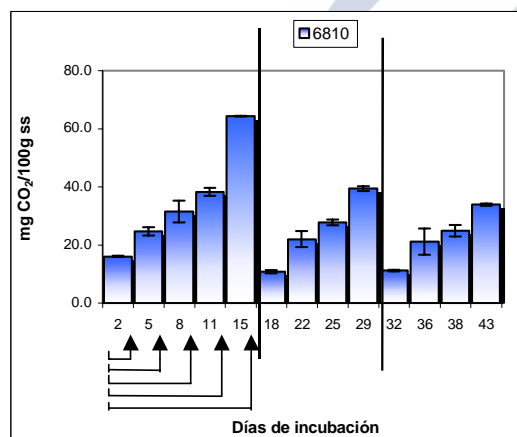


Gráfico L3

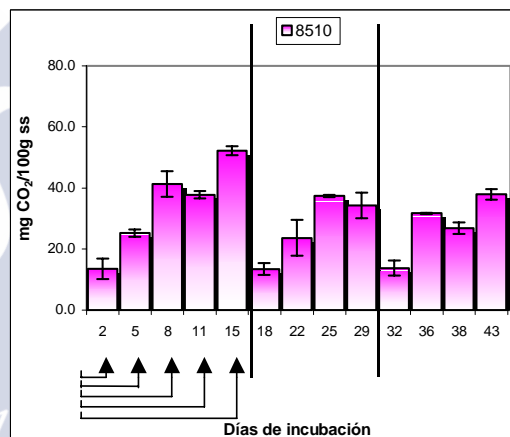


Gráfico L4

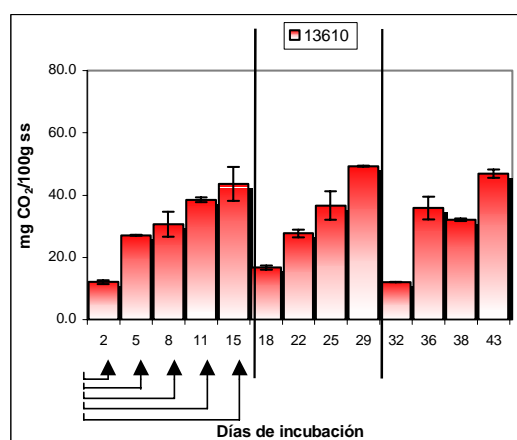


Gráfico L5

**Gráficas L1-L5:** mg de CO<sub>2</sub> presentes en el espacio de cabeza en el momento de efectuar las medidas, y que han sido desprendidas a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de 10°C con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L1:** humedad del 33%.

**Gráfica L2:** humedad del 55%.

**Gráfica L3:** humedad del 68%.

**Gráfica L4:** humedad del 85%.

**Gráfica L5:** humedad del 136%.



## CO<sub>2</sub> desprendido por el Suelo de Forcarei a 25°C

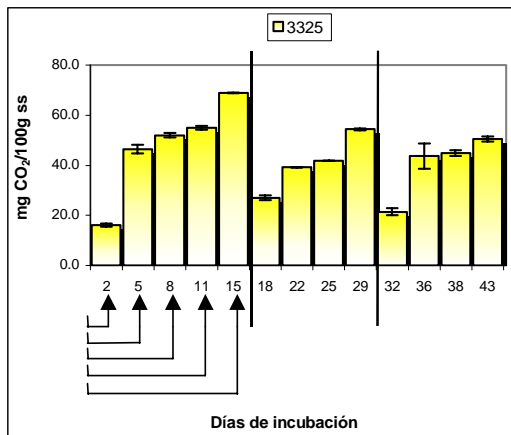


Gráfico L6

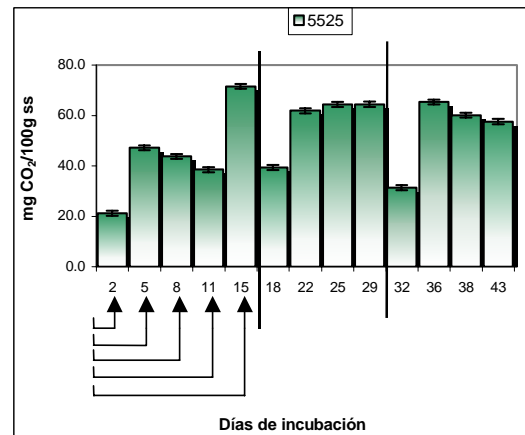


Gráfico L7

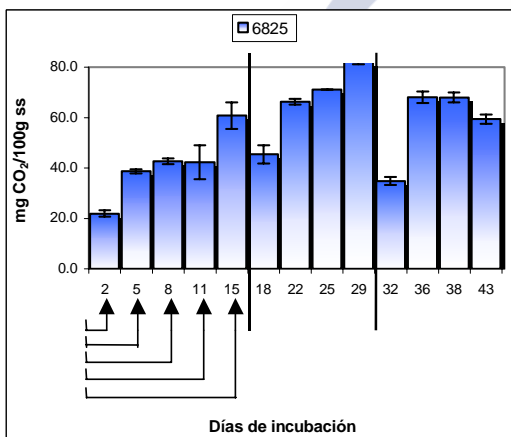


Gráfico L8

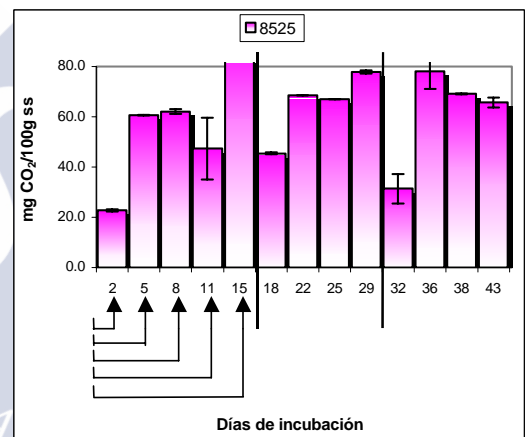


Gráfico L9

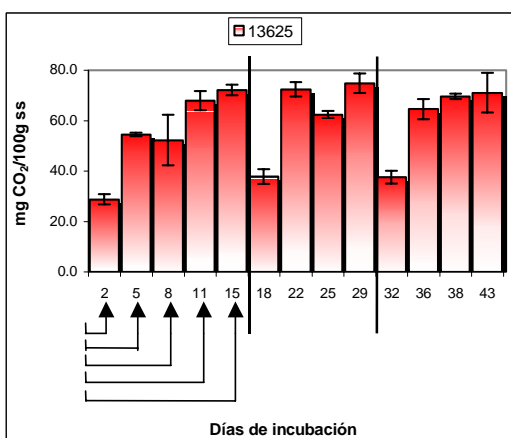


Gráfico L10

**Gráficas L6-L10:** mg de CO<sub>2</sub> presentes en el espacio de cabeza en el momento de efectuar las medidas, y que han sido desprendidas a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de 25°C con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L6:** humedad del 33%.

**Gráfica L7:** humedad del 55%.

**Gráfica L8:** humedad del 68%.

**Gráfica L9:** humedad del 85%.

**Gráfica L10:** humedad del 136%.

## N<sub>2</sub>O desprendido por el Suelo de Forcarei a 10°C

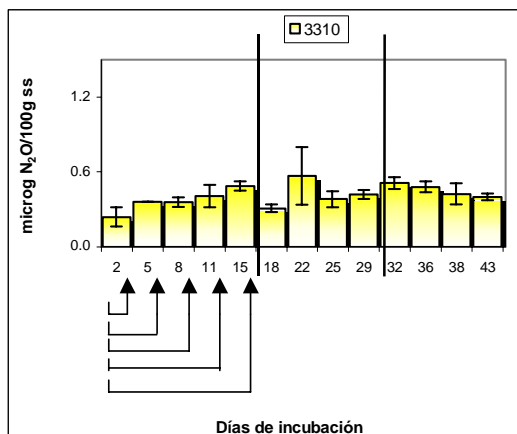


Gráfico L11

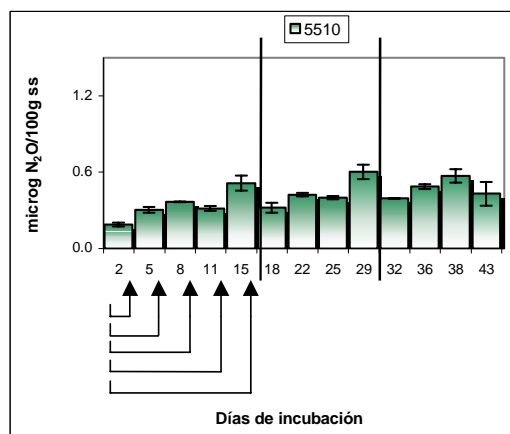


Gráfico L12

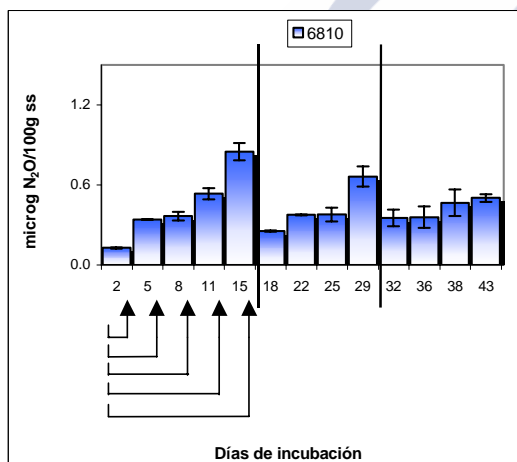


Gráfico L13

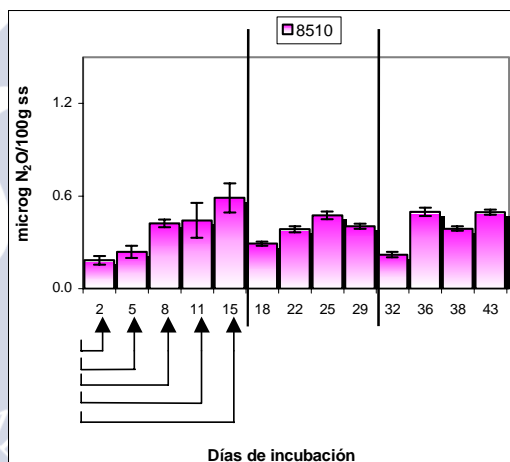


Gráfico L14

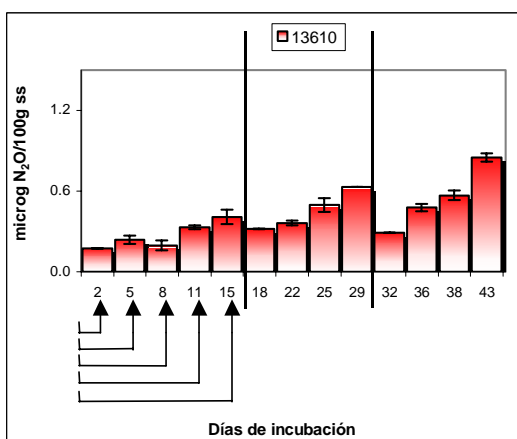


Gráfico L15

**Gráficas L11-L15:**  $\mu\text{g}$  de N<sub>2</sub>O presentes en el espacio de cabeza en el momento de efectuar las medidas, y que han sido desprendidas a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de 10°C con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L11:** humedad del 33%.

**Gráfica L12:** humedad del 55%.

**Gráfica L13:** humedad del 68%.

**Gráfica L14:** humedad del 85%.

**Gráfica L15:** humedad del 136%.

## N<sub>2</sub>O desprendido por el Suelo de Forcarei a 25°C

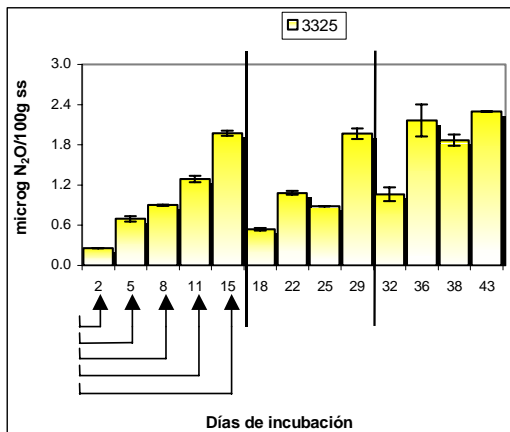


Gráfico L16

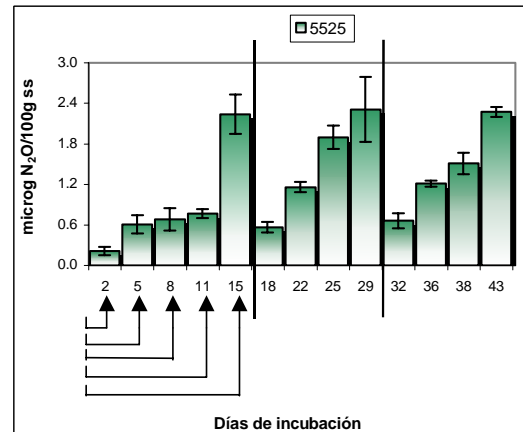


Gráfico L17

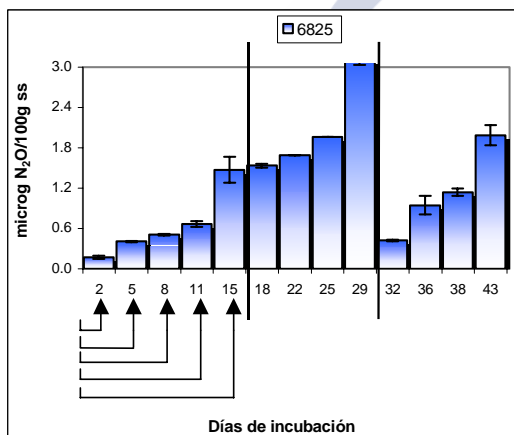


Gráfico L18

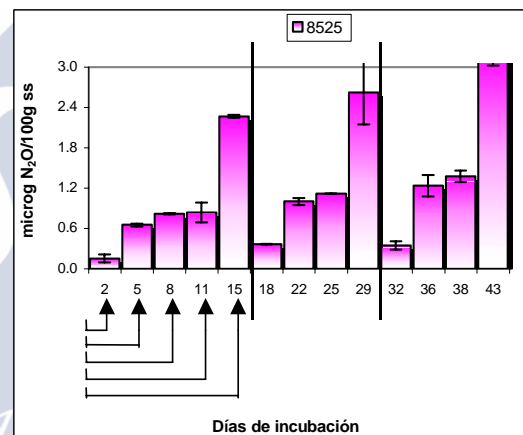


Gráfico L19

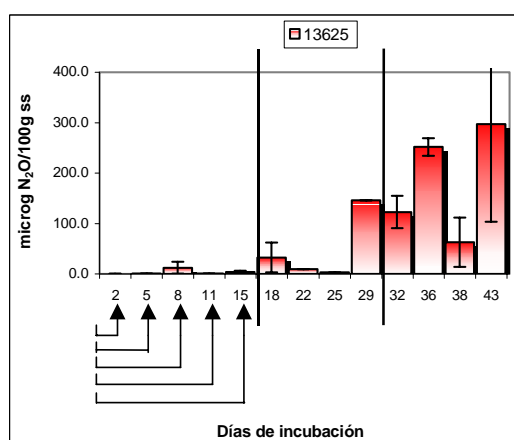


Gráfico L20

**Gráficas L16-L20:**  $\mu\text{g}$  de N<sub>2</sub>O presentes en el espacio de cabeza en el momento de efectuar las medidas, y que han sido desprendidas a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de 25°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L16: humedad del 33%.

Gráfica L17: humedad del 55%.

Gráfica L18: humedad del 68%.

Gráfica L19: humedad del 85%.

Gráfica L20: humedad del 136%.

## Velocidades relativas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Forcarei a $10^\circ\text{C}$

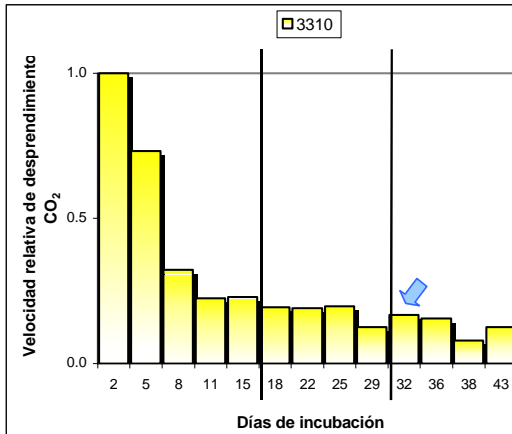


Gráfico L21

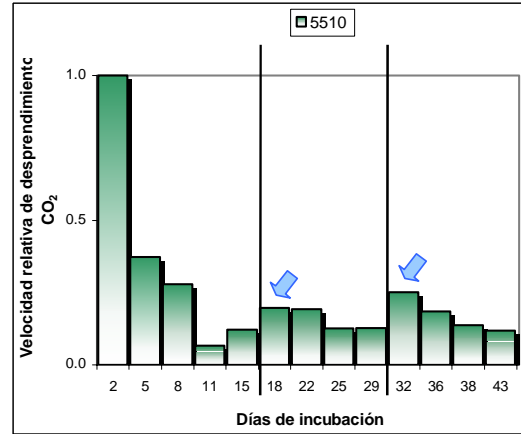


Gráfico L22

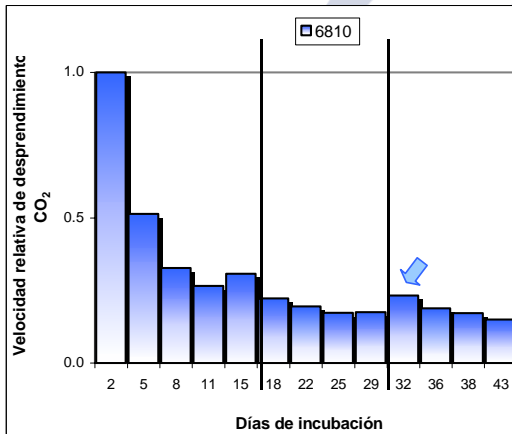


Gráfico L23

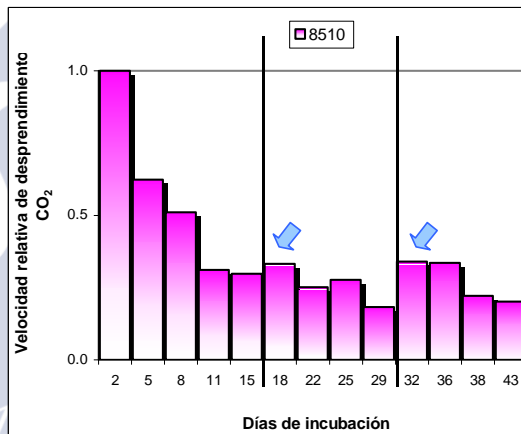


Gráfico L24

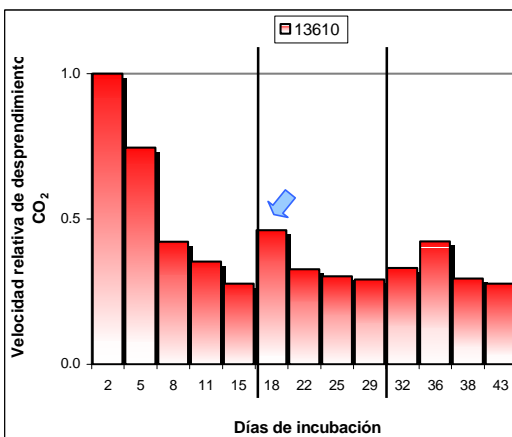


Gráfico L25

**Gráficas L21-L25:** velocidades relativas de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $10^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L21: humedad del 33%.

Gráfica L22: humedad del 55%.

Gráfica L23: humedad del 68%.

Gráfica L24: humedad del 85%.

Gráfica L25: humedad del 136%.

(1 = Velocidad máxima de en cada uno de los casos).

## Velocidades relativas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Forcarei a $25^\circ\text{C}$

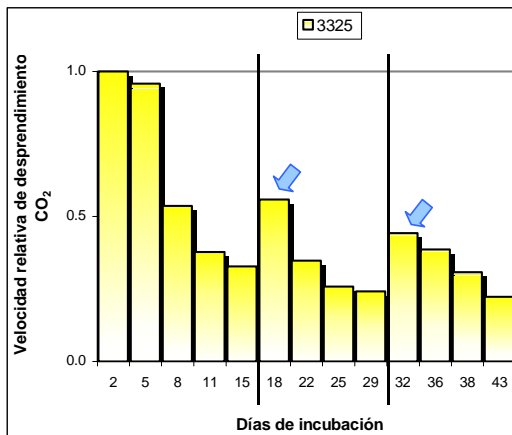


Gráfico L26

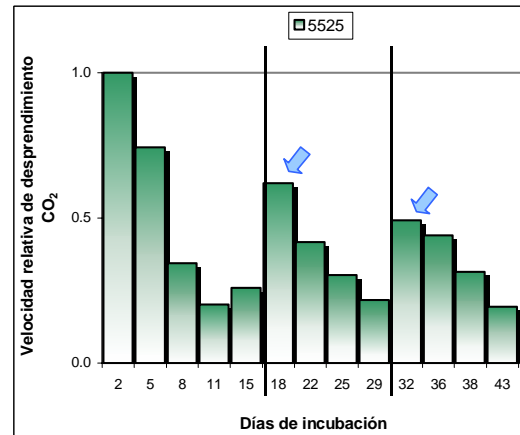


Gráfico L27

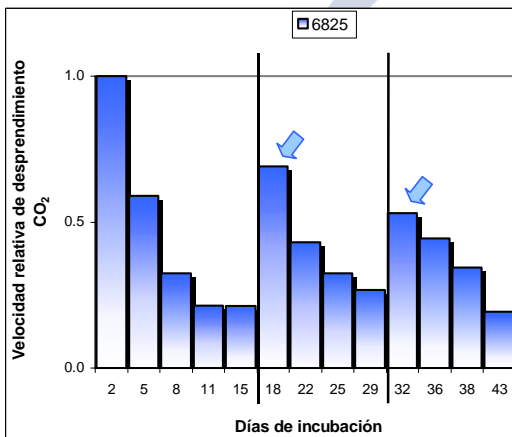


Gráfico L28

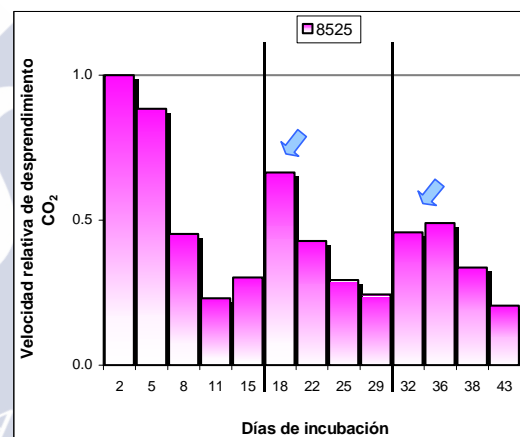


Gráfico L29

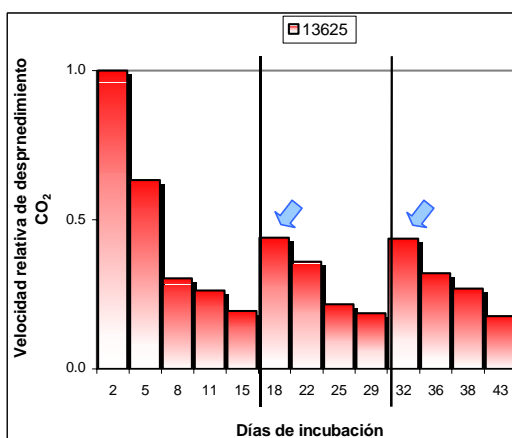


Gráfico L30

**Gráficas L26-L30:** velocidades relativas de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  **$25^\circ\text{C}$**  con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L26:** humedad del 33%.

**Gráfica L27:** humedad del 55%.

**Gráfica L28:** humedad del 68%.

**Gráfica L29:** humedad del 85%.

**Gráfica L30:** humedad del 136%.

(1 = Velocidad máxima de en cada uno de los casos).

## Velocidades relativas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Forcarei a 10°C

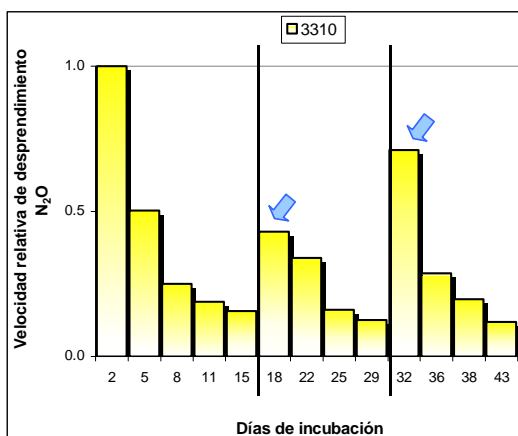


Gráfico L31

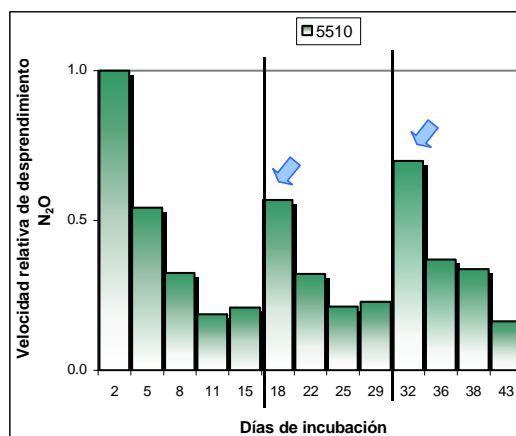


Gráfico L32

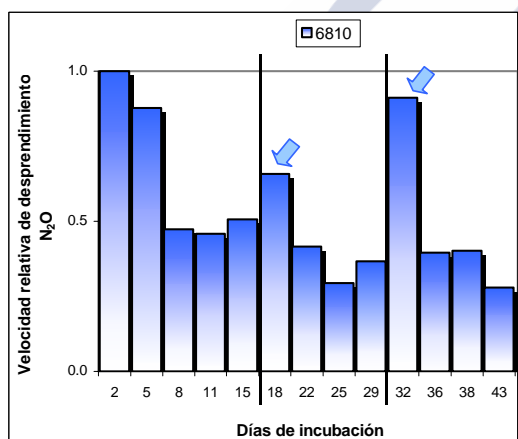


Gráfico L33

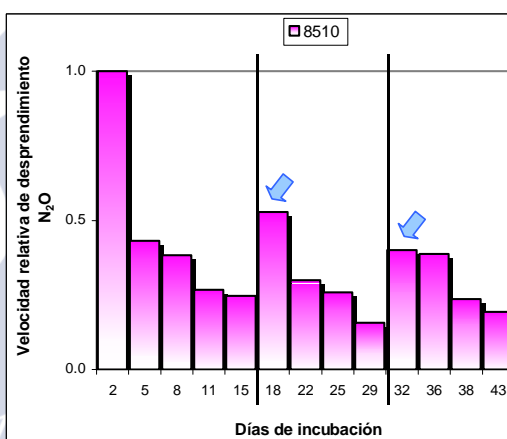


Gráfico L34

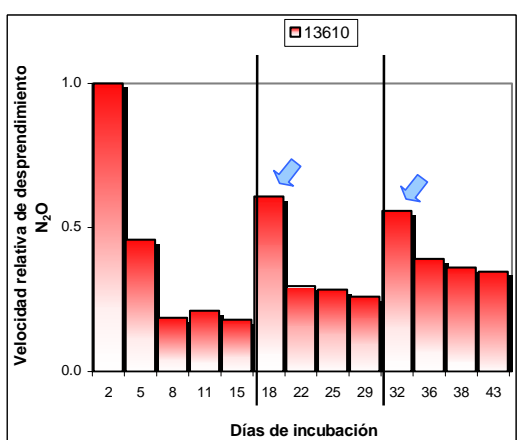


Gráfico L35

**Gráficas L31-L35:** velocidades relativas de desprendimiento de  $N_2O$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de 10°C con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L31:** humedad del 33%.

**Gráfica L32:** humedad del 55%.

**Gráfica L33:** humedad del 68%.

**Gráfica L34:** humedad del 85%.

**Gráfica L35:** humedad del 136%.

(1 = Velocidad máxima de en cada uno de los casos).

## Velocidades relativas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Forcarei a 25°C

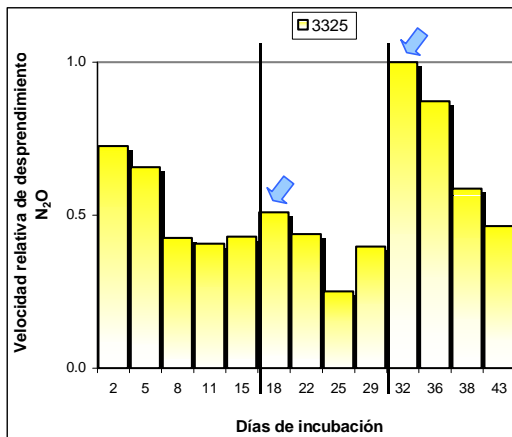


Gráfico L36

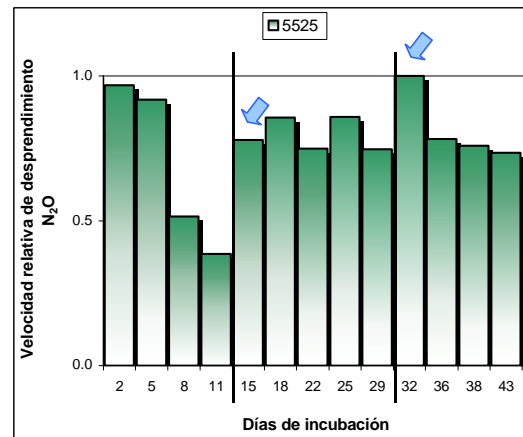


Gráfico L37

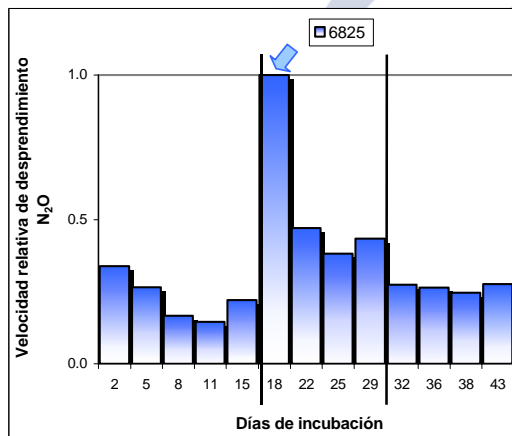


Gráfico L38

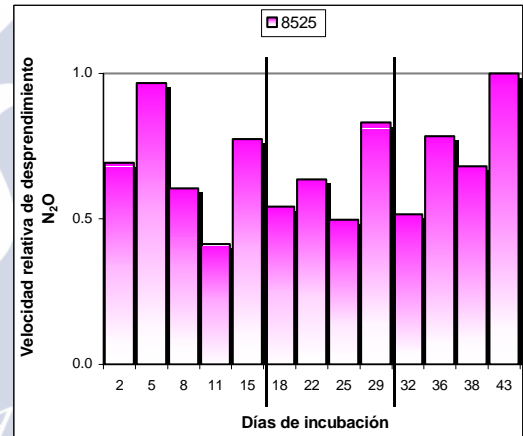


Gráfico L39

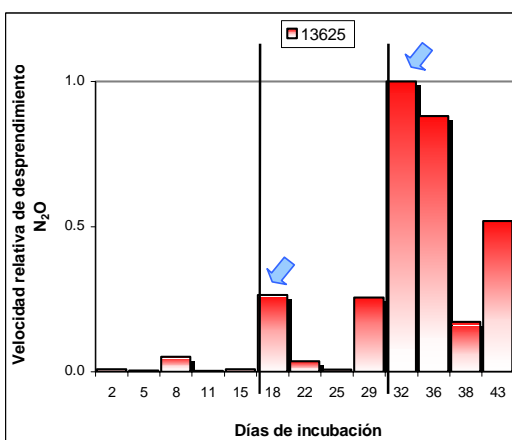


Gráfico L40

**Gráficas L36-L40:** velocidades relativas de desprendimiento de  $N_2O$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de **25°C** con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L36:** humedad del 33%.

**Gráfica L37:** humedad del 55%.

**Gráfica L38:** humedad del 68%.

**Gráfica L39:** humedad del 85%.

**Gráfica L40:** humedad del 136%.

(1 = Velocidad máxima de en cada uno de los casos).

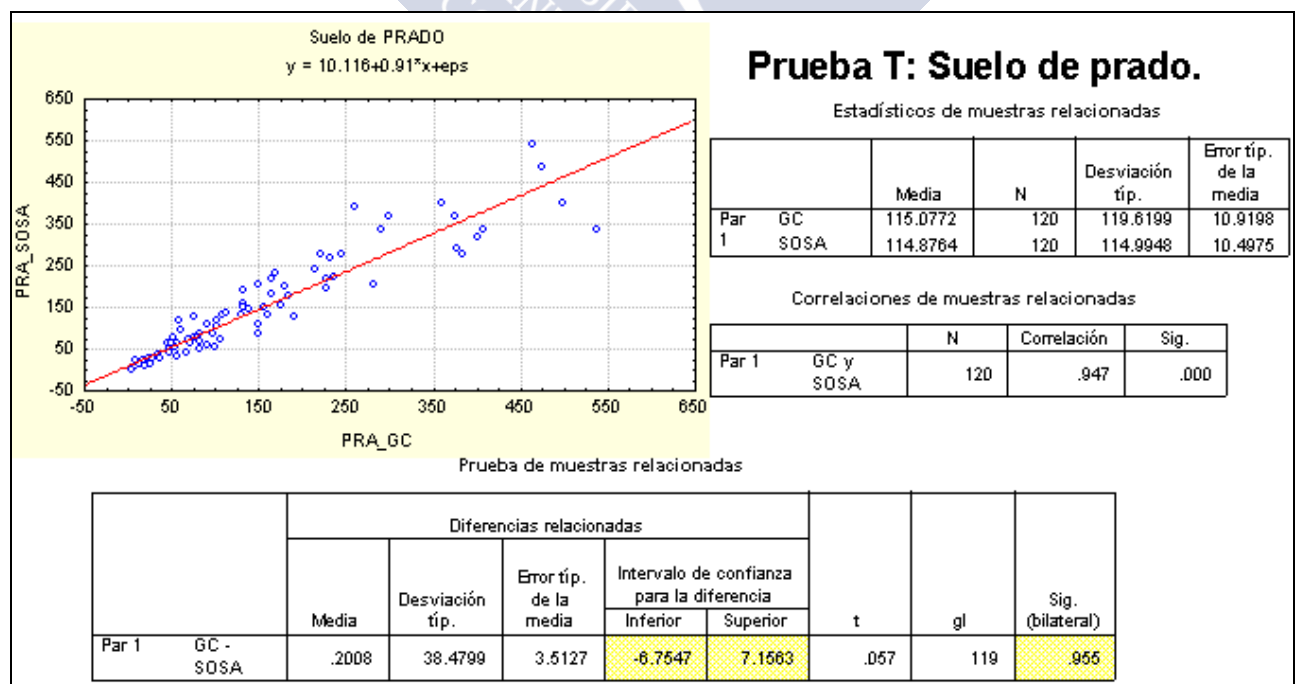


### V.10.2.- Comparación de los resultados de emisión de CO<sub>2</sub> obtenidos por los dos métodos utilizados: gas-cromatográfico y volumétrico:

La comparación de los resultados obtenidos para la emisión de CO<sub>2</sub> por ambos métodos analíticos utilizados, se ha llevado a cabo para los primeros 15 días de cada incubación, mediante la realización estadística del test T para muestras relacionadas.

Las dos variables estadísticas a estudiar están expresadas en mg CO<sub>2</sub>/100 g de suelo seco, si bien la primera corresponde a las medidas obtenidas mediante la utilización del método cromatográfico, mientras que la segunda variable corresponde a las medidas obtenidas en las volumetrías por retorno.

Los datos de ambas variables son perfectamente emparejables, puesto que las medidas de CO<sub>2</sub> por ambos métodos se han realizado de manera simultánea y por tanto corresponden exactamente al mismo momento de incubación. En las **figuras 8, 9 y 10** que aparecen a continuación, se resumen los resultados obtenidos en los test T para cada uno de los suelos, así como la representación de los datos en cada caso.



**Figura L8: Resultados del test T de comparación de métodos analíticos, suelo de prado.**

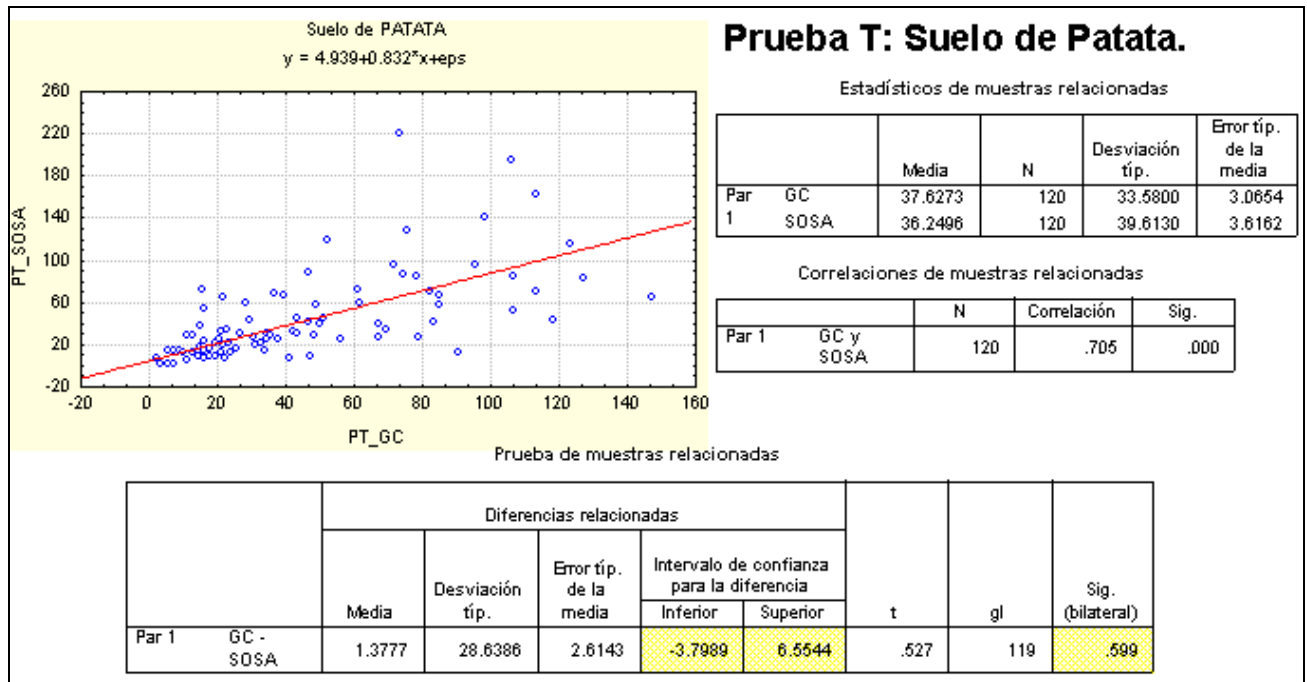


Figura L9: Resultados del test T de comparación de métodos analíticos, suelo de patata.

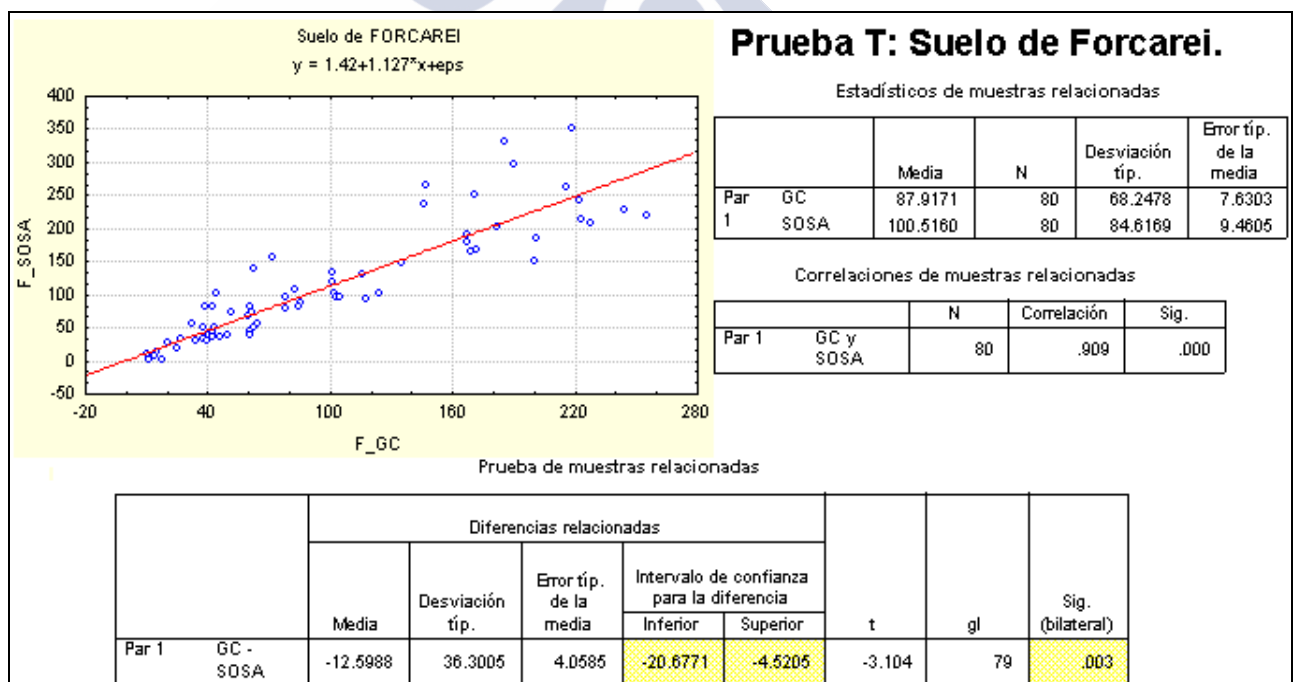


Figura L10: Resultados del test T de comparación de métodos analíticos, suelo de Forcarei.

Se ha realizado también el test T para muestras relacionadas para los tres suelos a la vez, los resultados se muestran en la **figura 11**. En la misma aparecen también las representaciones obtenidas de entrenar los datos del análisis por GC y por sosa para los tres suelos.



### V.10.3.- Cinéticas de desprendimiento de gases con el diseño de incubación definitivo:

En el grupo de gráficas siguientes, se puede visualizar la variación de la velocidad de emisión de gases a lo largo de cada una de las incubaciones que han sido llevadas a cabo siguiendo el diseño definitivo, por haberse considerado apropiado. Se han representado las cantidades de  $N_2O$  y  $CO_2$  desprendidos por cada día de incubación, para cada par *temperatura - humedad* y para cada uno de los suelos objeto de estudio, así como la desviación estándar que se ha obtenido entre dos medidas iguales. Se han representado los resultados obtenidos para cada uno de los tres suelos estudiados:

- i) **Suelo de Forcarei:** datos sobre la velocidad de desprendimiento del  $CO_2$  en las **gráficas L41-L60** y del  $N_2O$  en las **gráficas L61-L80**. Se trata de aquellas incubaciones que, del suelo de Forcarei, se han llevado a cabo con el diseño experimental definitivo (15, 20, 30 y 35°C).
- ii) **Suelo de Prado:** en las **gráficas L101-130** se pueden visualizar las cinéticas de emisión de  $CO_2$  mientras que las de  $N_2O$  pueden observarse en las numeradas como **L131-160**.
- iii) **Suelo de Patata:** los resultados explicativos sobre las velocidades de liberación de  $CO_2$  a partir de este suelo, se encuentran en las **gráficas L161-190**, siendo las **gráficas L191-220** las que contienen los de las velocidades del  $N_2O$ .

En todas estas gráficas se recogen las velocidades reales de emisión de gases (no relativas) expresadas en:

$$\frac{\mu g \text{ de } N_2O \text{ medidos} \quad \text{ó} \quad mg \text{ de } CO_2 \text{ medidos}}{100 \text{ g de ss} * \text{ días que han permanecido sellados los viales (1, 3 ó 4)}}$$

Además, se ha tratado de representar todas las gráficas del mismo grupo (el mismo suelo a la misma temperatura, en todos sus niveles de humedad) con la misma escala, con el fin de poder evaluarlas comparativamente. Si bien, en los suelos con niveles de máxima humedad y a partir de ciertas temperaturas se produce tal explosión en la liberación de  $N_2O$

que hace imposible mantener la misma escala que se utiliza cuando las humedades son inferiores.

- iv) Se han representado **las velocidades relativas** (a la máxima de cada caso) de liberación de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  por el **suelo de Forcarei** sometido a 15 y 30°C y utilizando el diseño de incubación definitivo (**gráficas L81-L100**). Se trata de poder comparar los resultados obtenidos con los de las incubaciones a 10 y 25°C que ya han sido descritos anteriormente.



## Cinética de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Forcarei a $15^\circ\text{C}$

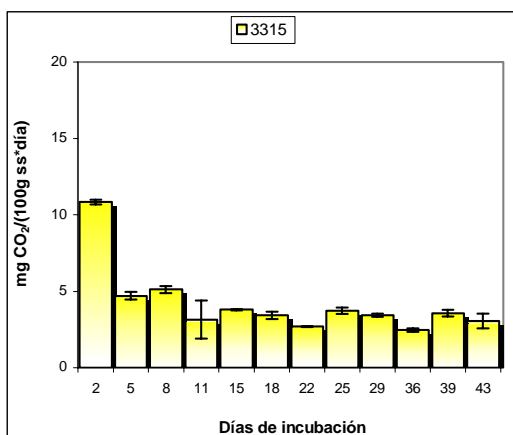


Gráfico L41

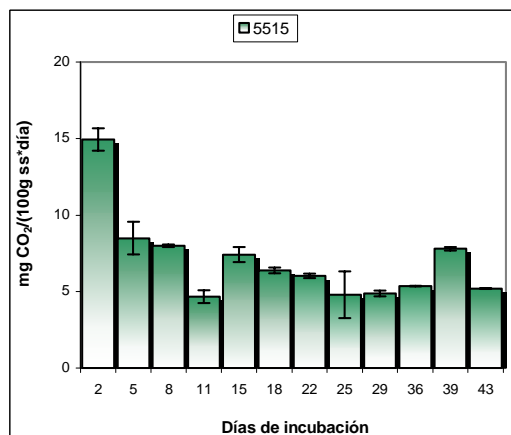


Gráfico L42

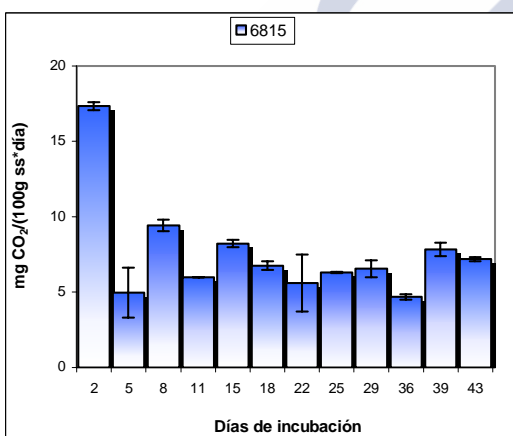


Gráfico L43

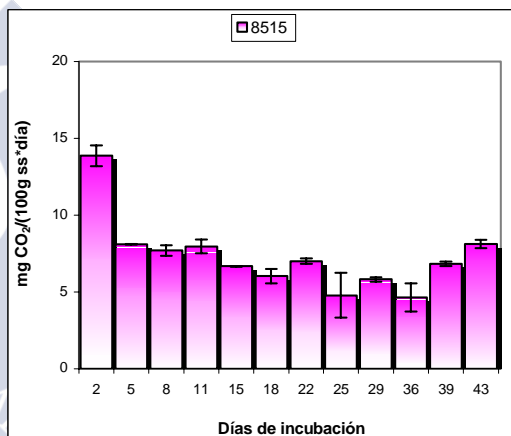


Gráfico L44

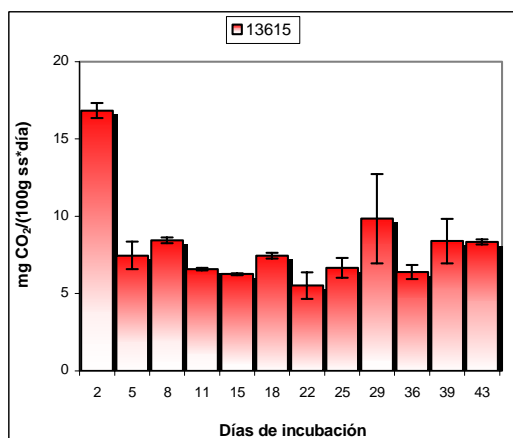


Gráfico L45

**Gráficas L41-L46:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de  $15^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

- Gráfica L41: humedad del 33%.
- Gráfica L42: humedad del 55%.
- Gráfica L43: humedad del 68%.
- Gráfica L44: humedad del 85%.
- Gráfica L45: humedad del 136%.

## Cinética de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Forcarei a $20^\circ\text{C}$

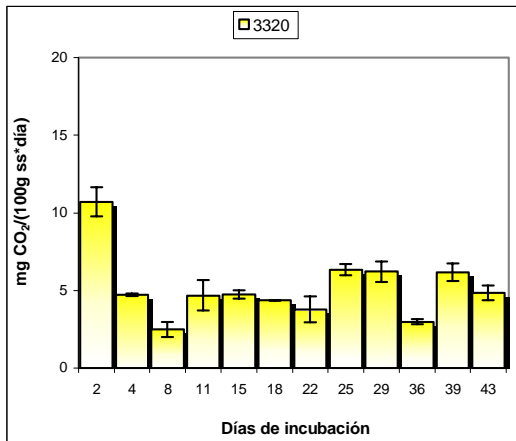


Gráfico L46

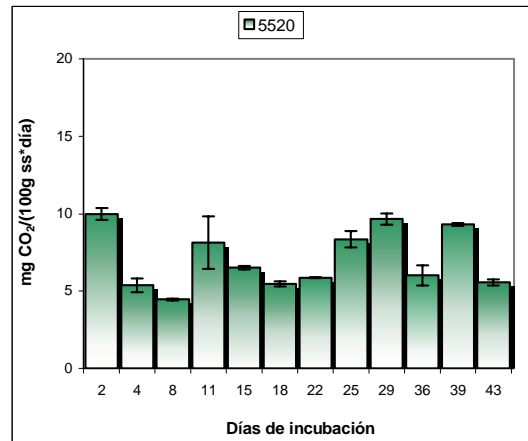


Gráfico L47

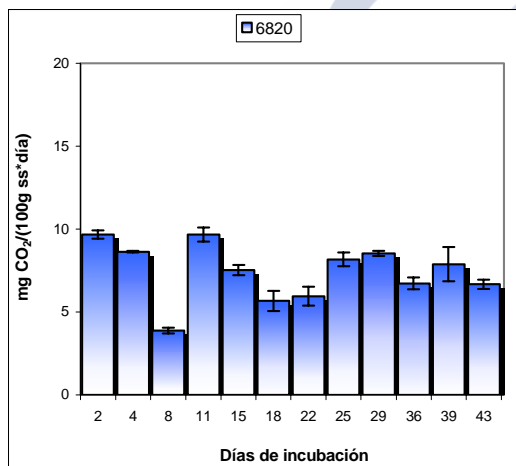


Gráfico L48

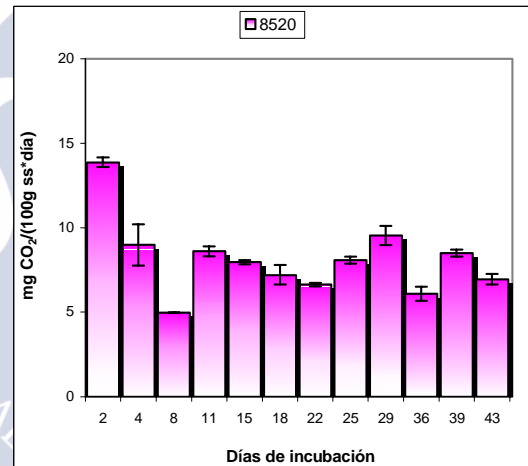


Gráfico L49

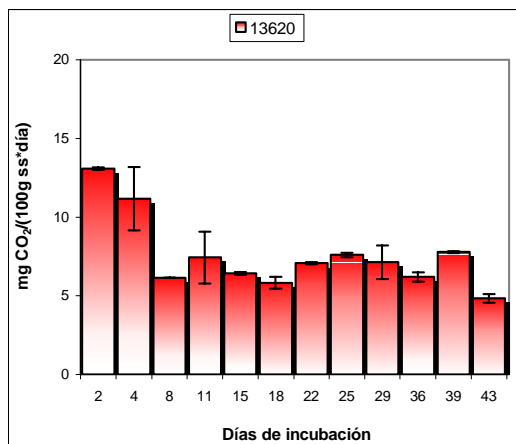


Gráfico L50

**Gráficas L47-L50:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de  $20^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L47: humedad del 33%.

Gráfica L48: humedad del 55%.

Gráfica L49: humedad del 68%.

Gráfica L50: humedad del 85%.

Gráfica L51: humedad del 136%.



## Cinética de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Forcarei a $30^\circ\text{C}$

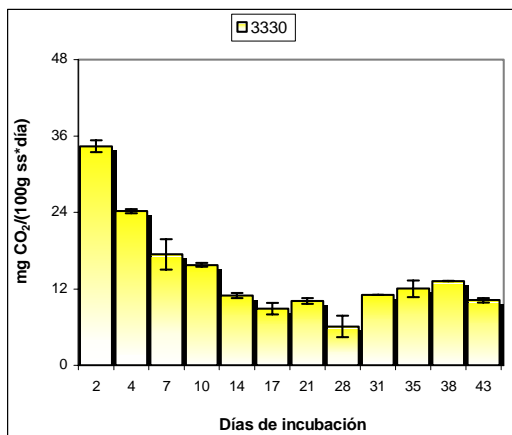


Gráfico L51

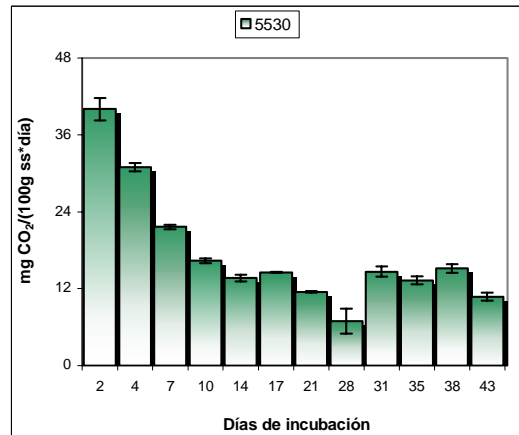


Gráfico L52

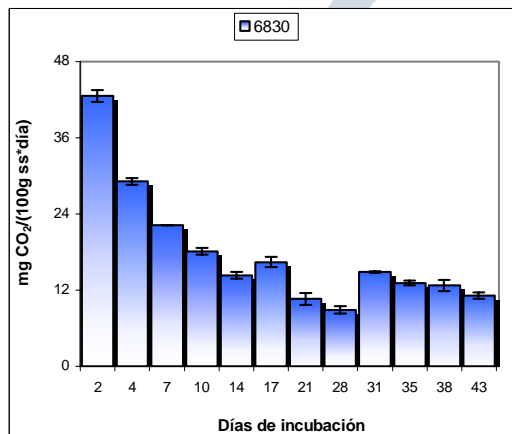


Gráfico L53

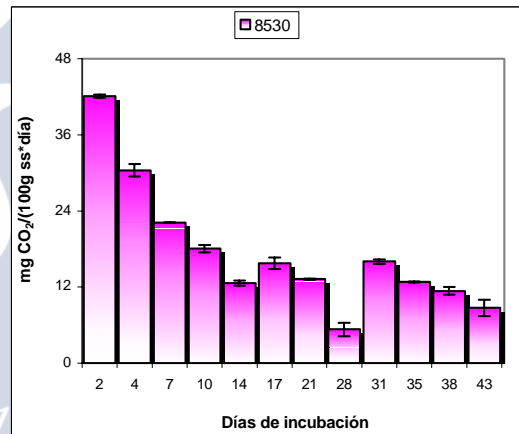


Gráfico L54

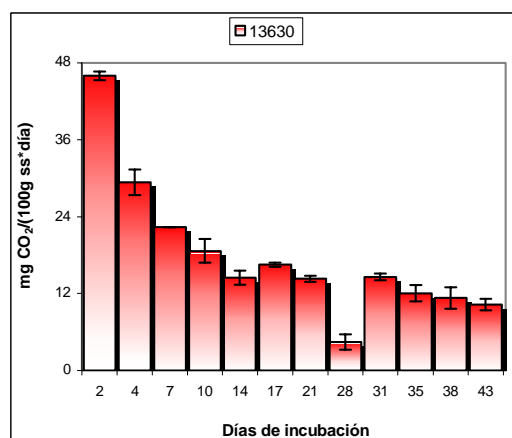


Gráfico L55

**Gráficas L51-L55:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de  $30^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L51: humedad del 33%.

Gráfica L52: humedad del 55%.

Gráfica L53: humedad del 68%.

Gráfica L54: humedad del 85%.

Gráfica L55: humedad del 136%.

## Cinética de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Forcarei a $35^\circ\text{C}$

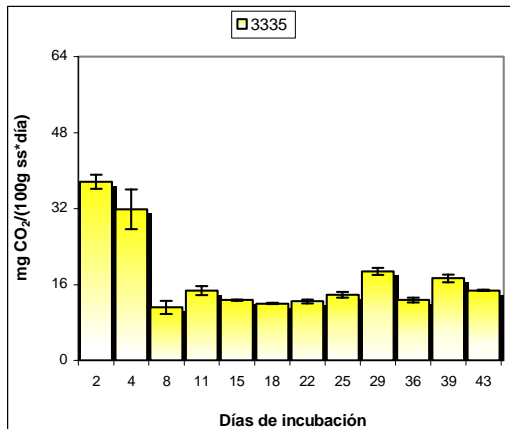


Gráfico L56

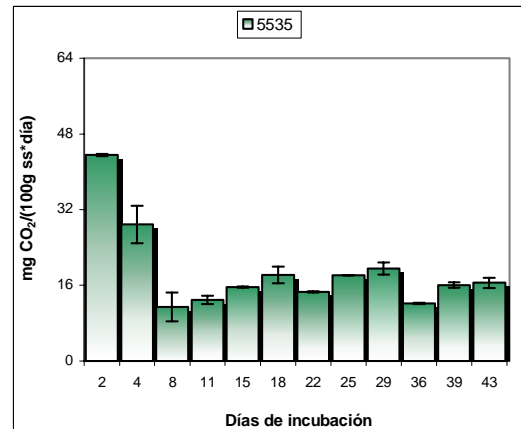


Gráfico L57

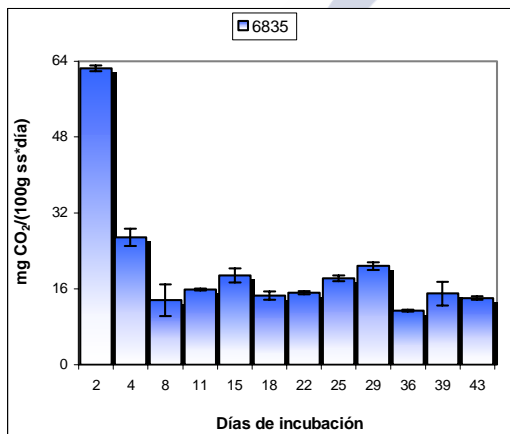


Gráfico L58

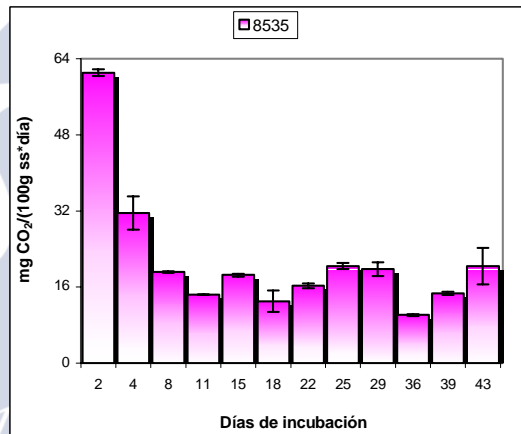


Gráfico L59

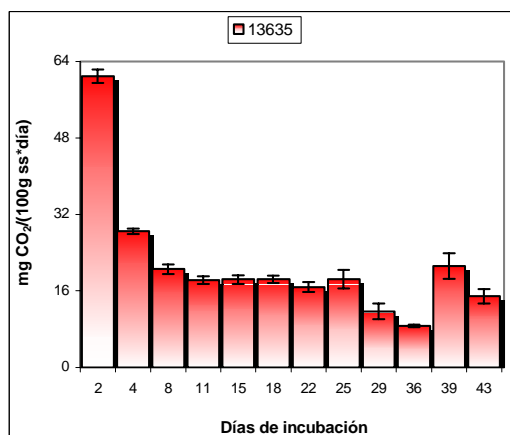


Gráfico L60

**Gráficas L56-L60:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de  **$35^\circ\text{C}$**  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L56: humedad del 33%.

Gráfica L57: humedad del 55%.

Gráfica L58: humedad del 68%.

Gráfica L59: humedad del 85%.

Gráfica L60: humedad del 136%.

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Forcarei a 15°C

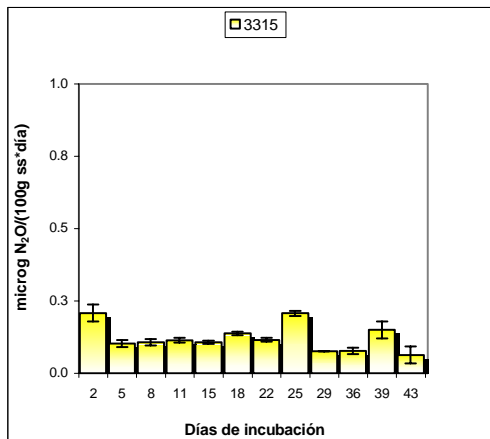


Gráfico L61

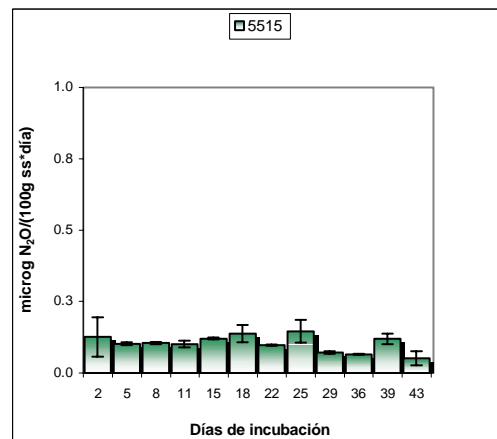


Gráfico L62

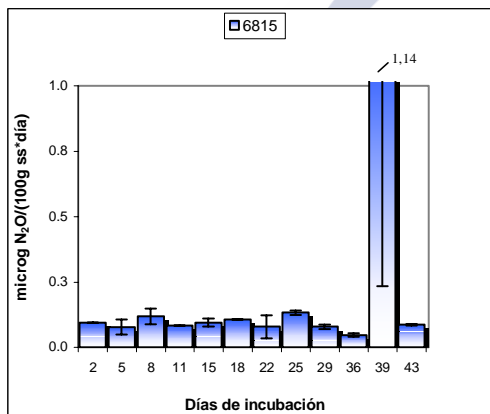


Gráfico L63

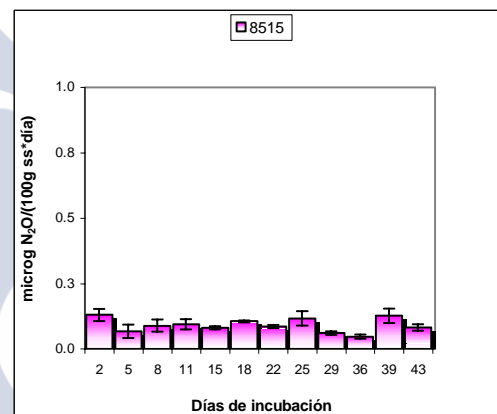


Gráfico L64

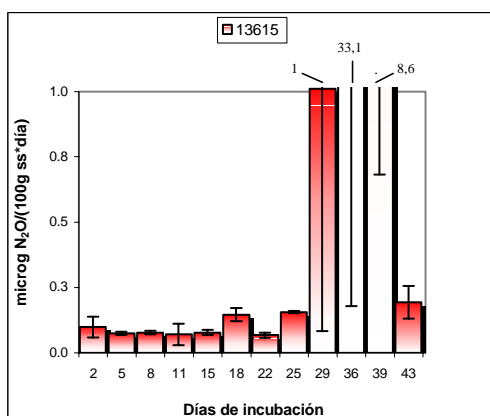


Gráfico L65

**Gráficas L61-L65:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de 15°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L61: humedad del 33%.

Gráfica L62: humedad del 55%.

Gráfica L63: humedad del 68%.

Gráfica L64: humedad del 85%.

Gráfica L65: humedad del 136%.

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Forcarei a 20°C

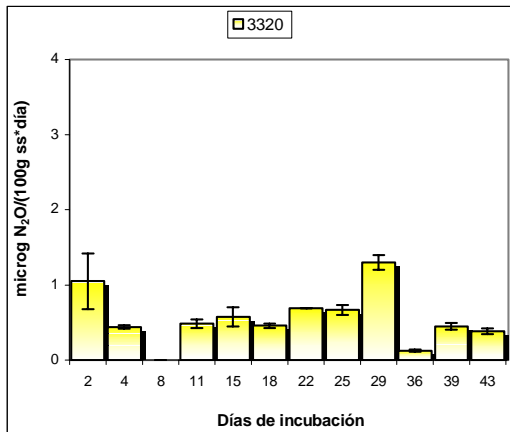


Gráfico L66

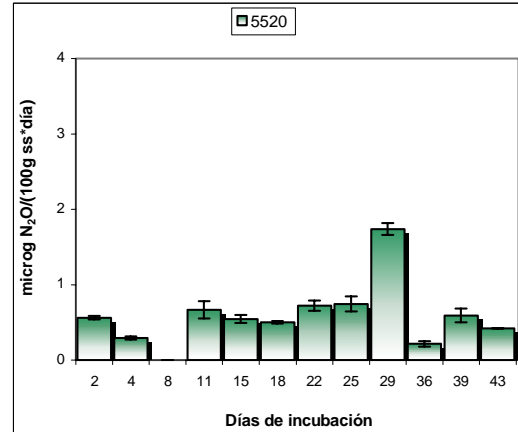


Gráfico L67

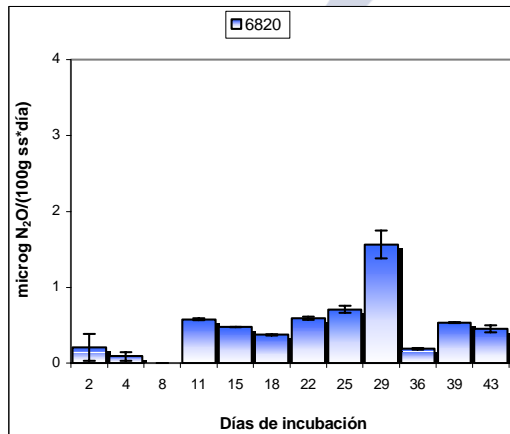


Gráfico L68

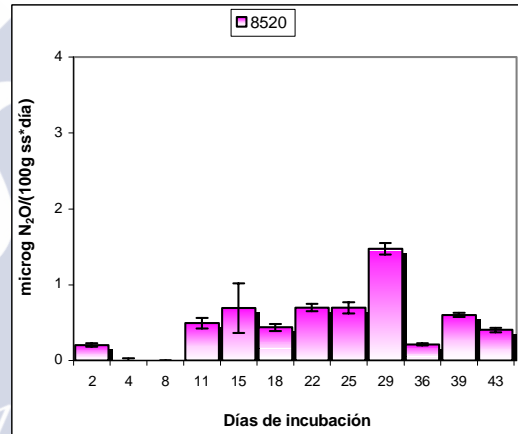


Gráfico L69

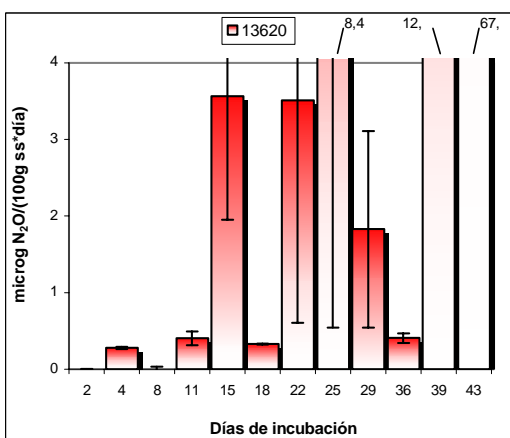


Gráfico L70

**Gráficas L66-L70:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de 20°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L66: humedad del 33%.

Gráfica L67: humedad del 55%.

Gráfica L68: humedad del 68%.

Gráfica L69: humedad del 85%.

Gráfica L70: humedad del 136%.

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Forcarei a 30°C

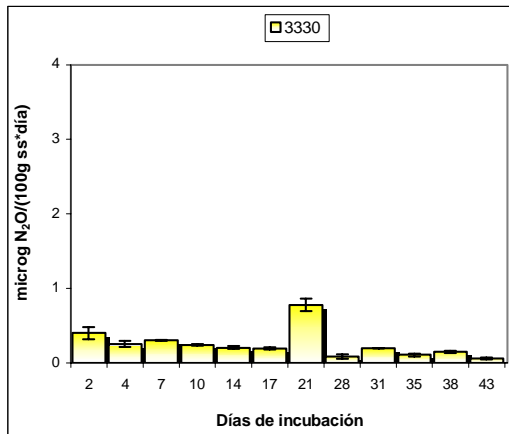


Gráfico L71

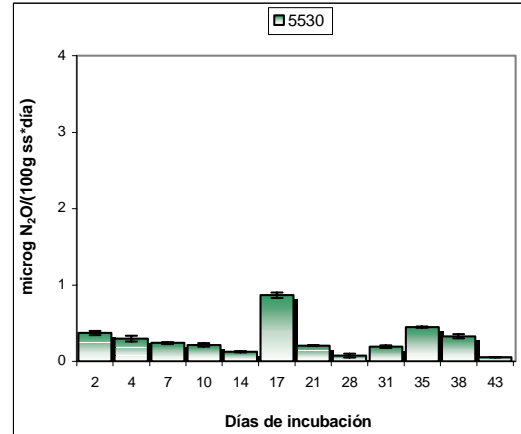


Gráfico L72

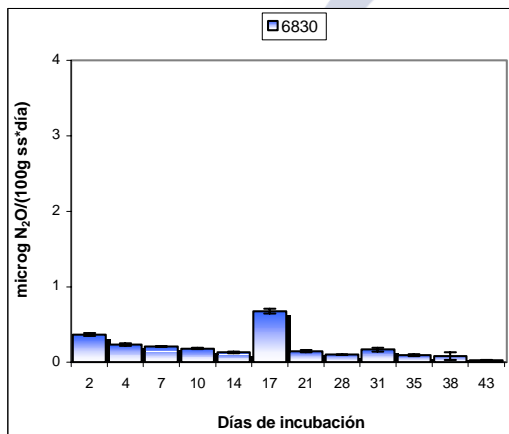


Gráfico L73

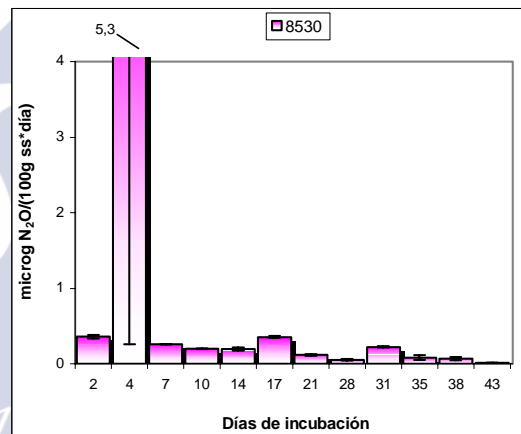


Gráfico L74

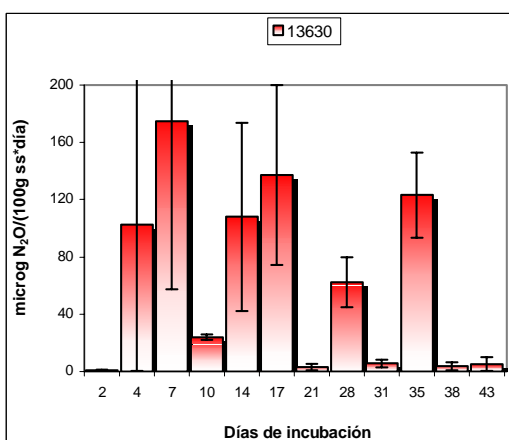


Gráfico L75

**Gráficas L71-L75:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de 30°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L71: humedad del 33%.

Gráfica L72: humedad del 55%.

Gráfica L73: humedad del 68%.

Gráfica L74: humedad del 85%.

Gráfica L75: humedad del 136%.

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Forcarei a 35°C

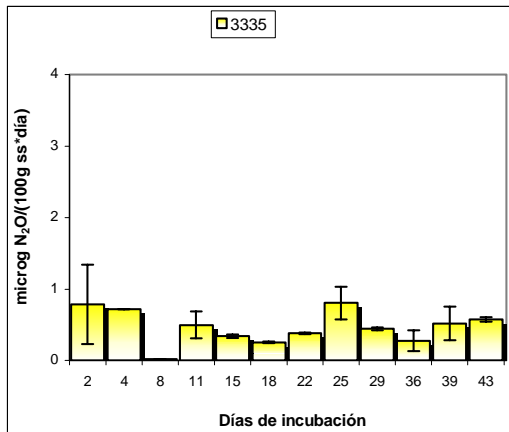


Gráfico L76

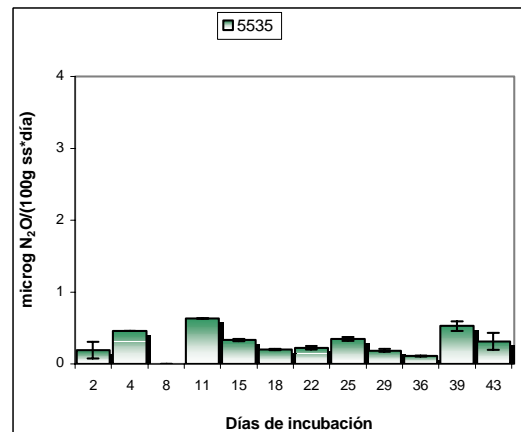


Gráfico L77

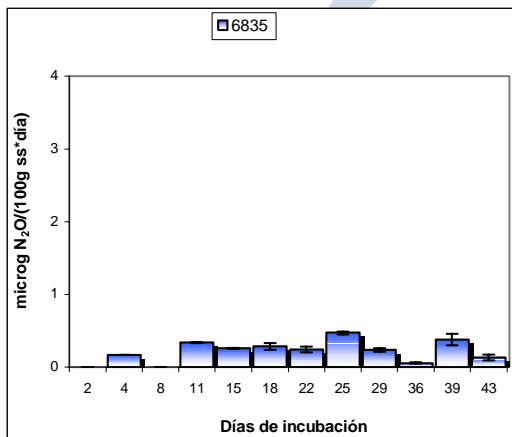


Gráfico L78

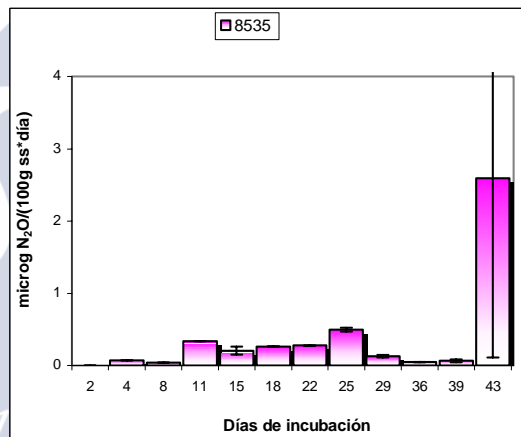


Gráfico L79

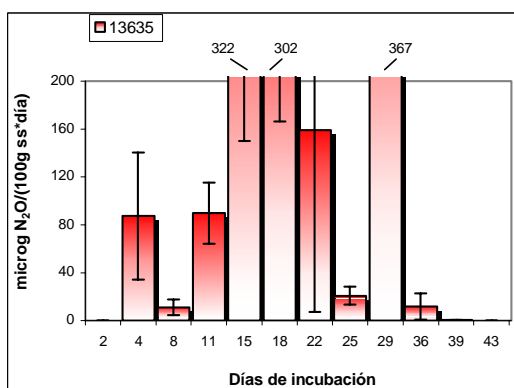


Gráfico L80

**Gráficas L76-L80:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **FORCAREI**, sometido a una temperatura de 30°C con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L76:** humedad del 33%.

**Gráfica L77:** humedad del 55%.

**Gráfica L78:** humedad del 68%.

**Gráfica L79:** humedad del 85%.

**Gráfica L80:** humedad del 136%.

## Velocidades relativas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Forcarei a $15^\circ\text{C}$

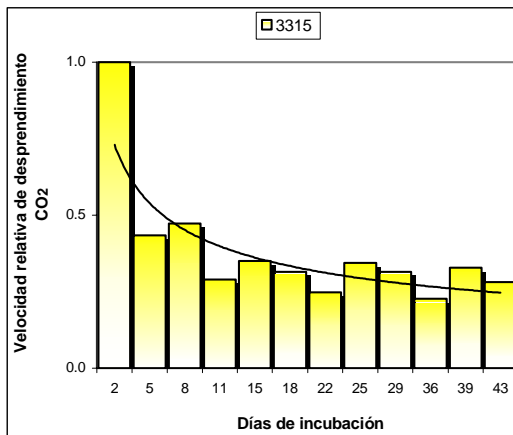


Gráfico L81

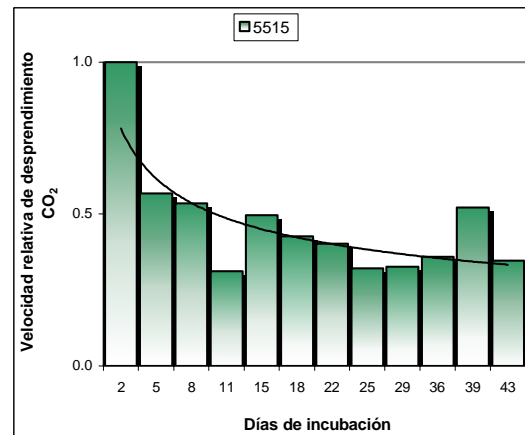


Gráfico L82

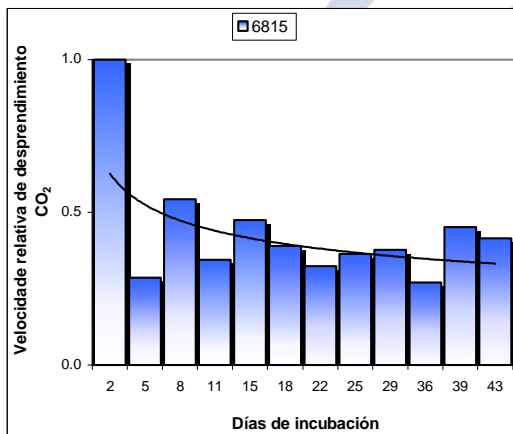


Gráfico L83

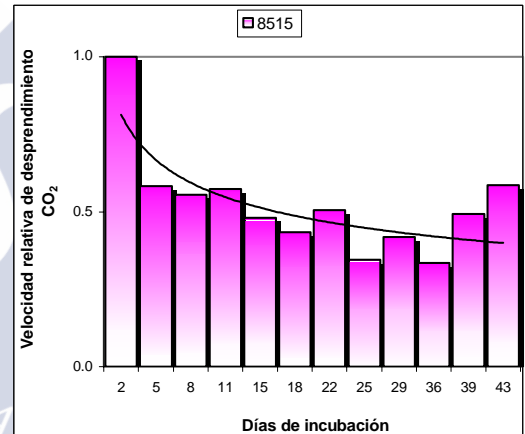


Gráfico L84

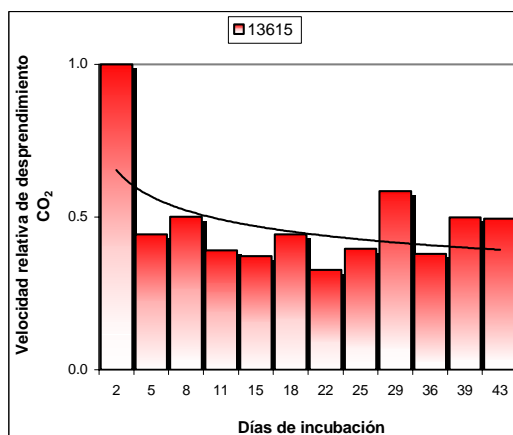


Gráfico L85

**Gráficas L81-L85:** velocidades relativas de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $15^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L81:** humedad del 33%.

**Gráfica L82:** humedad del 55%.

**Gráfica L83:** humedad del 68%.

**Gráfica L84:** humedad del 85%.

**Gráfica L85:** humedad del 136%.

(1 = Velocidad máxima de en cada uno de los casos).



## Velocidades relativas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Forcarei a $30^\circ\text{C}$

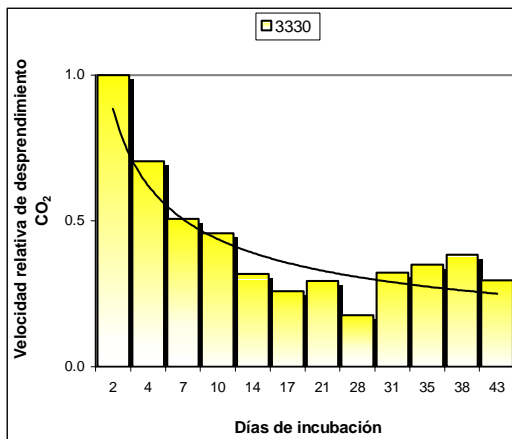


Gráfico L86

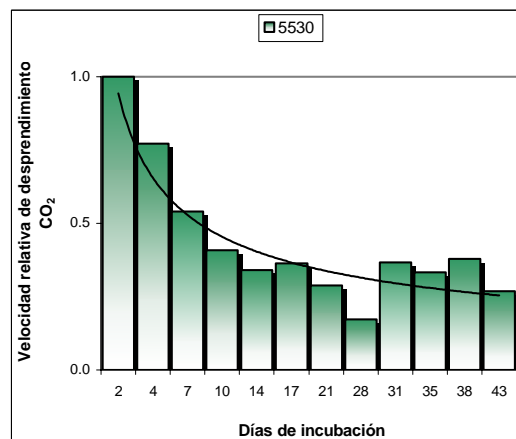


Gráfico L87

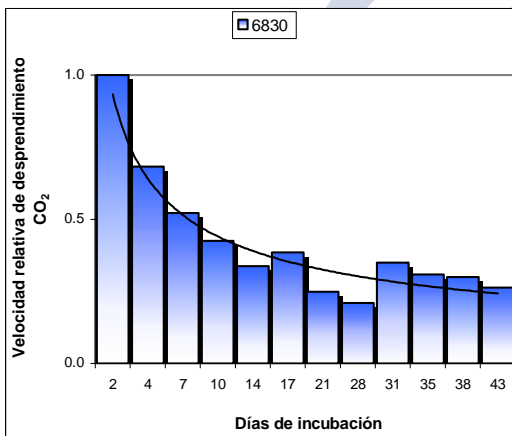


Gráfico L88

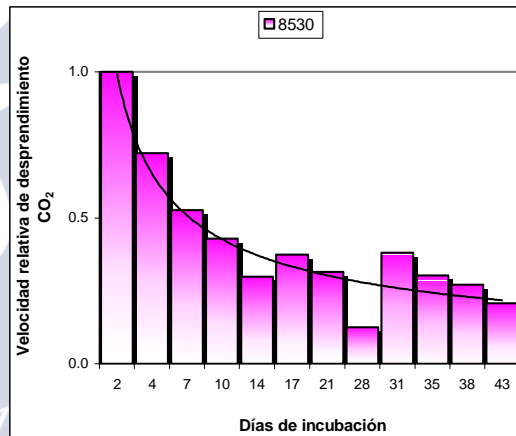


Gráfico L89

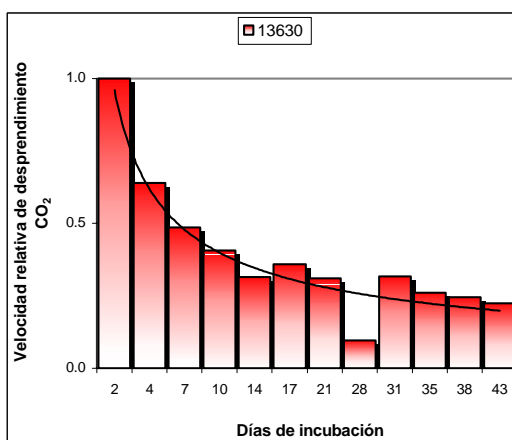


Gráfico L90

**Gráficas L86-L90:** velocidades relativas de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de  $30^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L86:** humedad del 33%.

**Gráfica L87:** humedad del 55%.

**Gráfica L88:** humedad del 68%.

**Gráfica L89:** humedad del 85%.

**Gráfica L90:** humedad del 136%.

(1 = Velocidad máxima de en cada uno de los casos).

## Velocidades relativas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Forcarei a 15°C

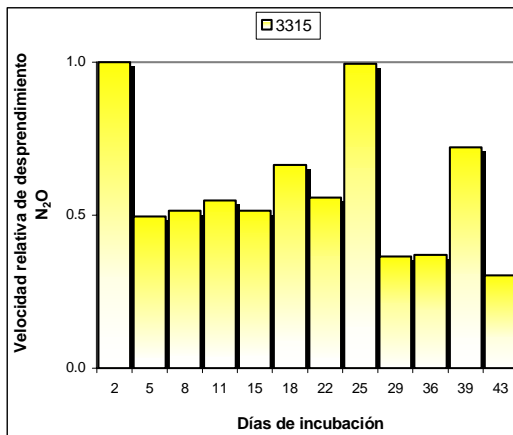


Gráfico L91

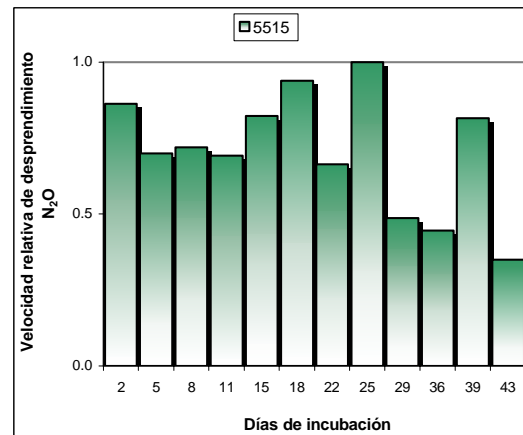


Gráfico L92

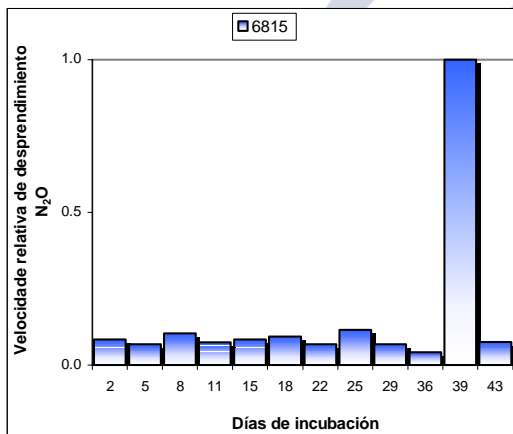


Gráfico L93

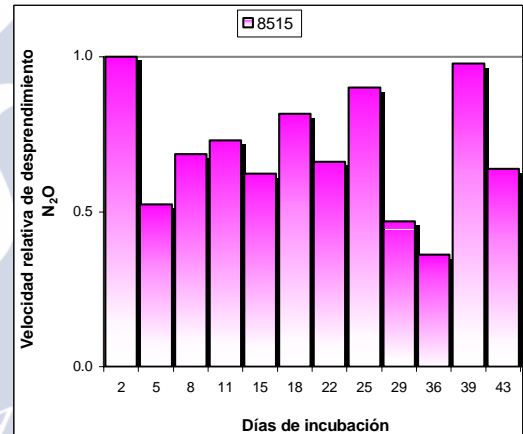


Gráfico L94

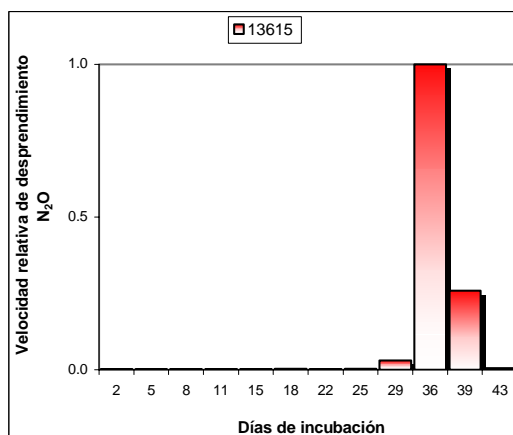


Gráfico L95

**Gráficas L91-L95:** velocidades relativas de desprendimiento de  $N_2O$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de 15°C con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L91:** humedad del 33%.

**Gráfica L92:** humedad del 55%.

**Gráfica L93:** humedad del 68%.

**Gráfica L94:** humedad del 85%.

**Gráfica L95:** humedad del 136%.

(1 = Velocidad máxima de en cada uno de los casos).

## Velocidades relativas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Forcarei a 30°C

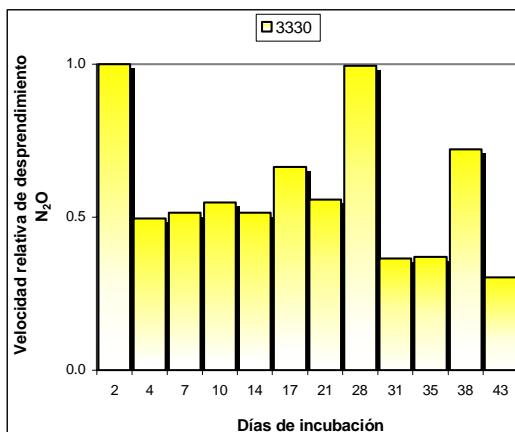


Gráfico L96

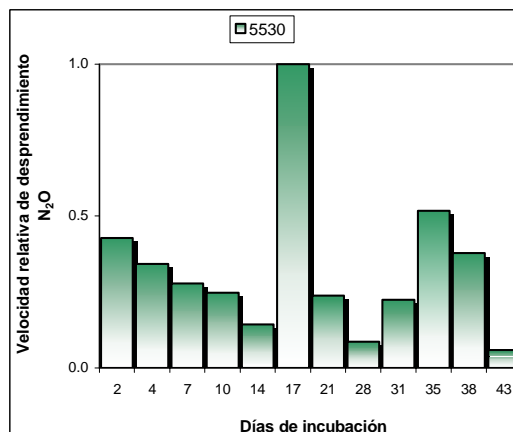


Gráfico L97

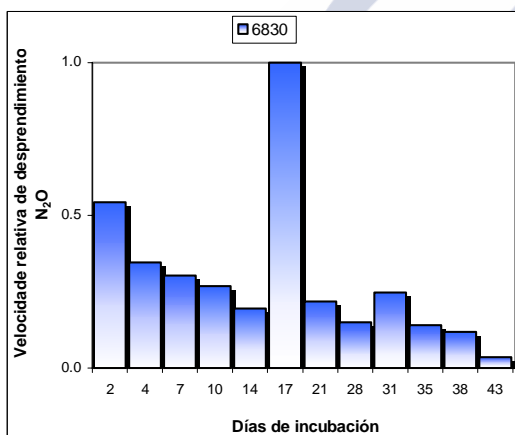


Gráfico L98

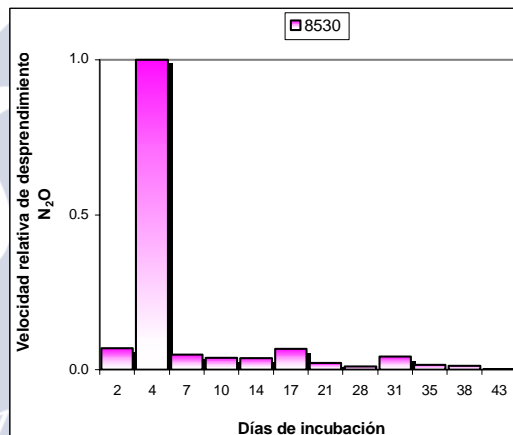


Gráfico L99

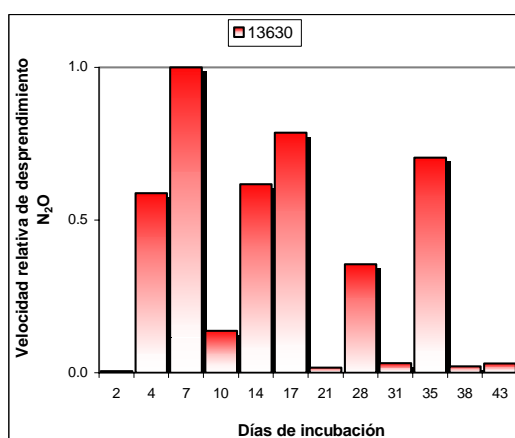


Gráfico L100

**Gráficas L96-L100:** velocidades relativas de desprendimiento de  $N_2O$  a partir de 100 g suelo (ss) de **FORCAREI** sometido a una temperatura de 30°C con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L96:** humedad del 33%.

**Gráfica L97:** humedad del 55%.

**Gráfica L98:** humedad del 68%.

**Gráfica L99:** humedad del 85%.

**Gráfica L100:** humedad del 136%.

(1 = Velocidad máxima de en cada uno de los casos).

## Cinéticas de desprendimiento de CO<sub>2</sub> por el Suelo de Prado a 10°C

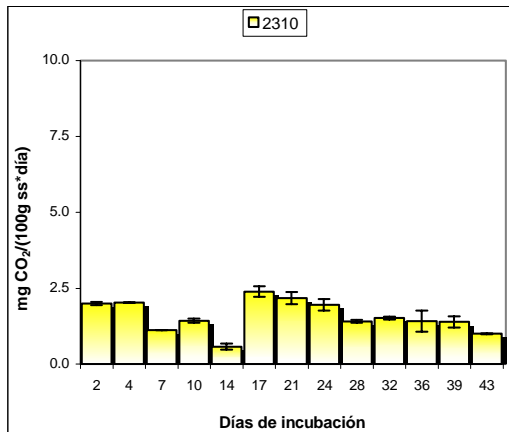


Gráfico L101

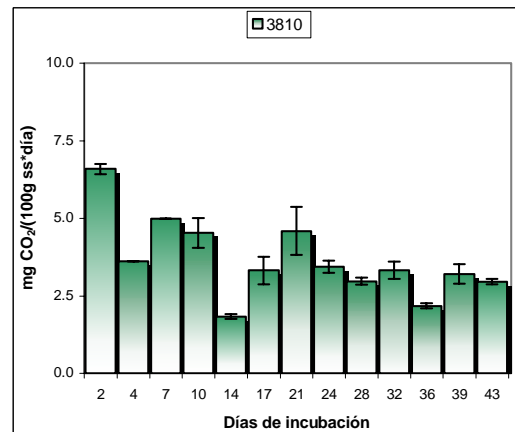


Gráfico L102

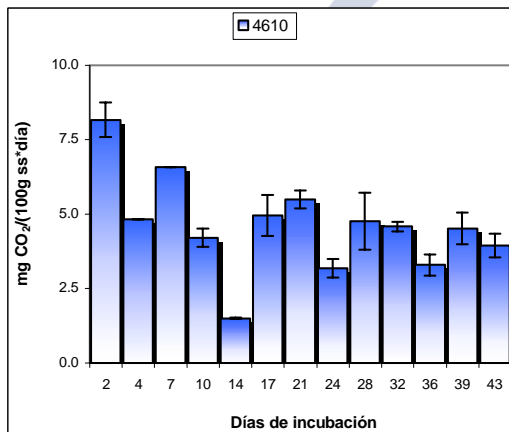


Gráfico L103

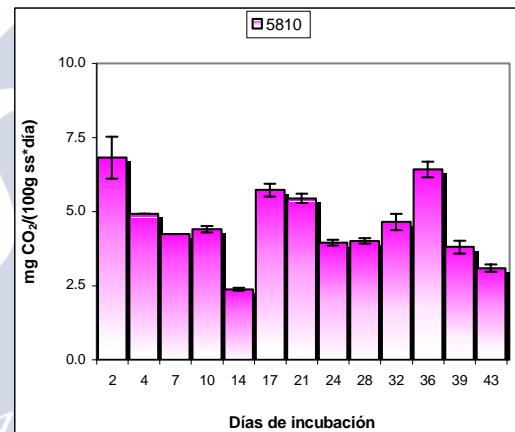


Gráfico L104

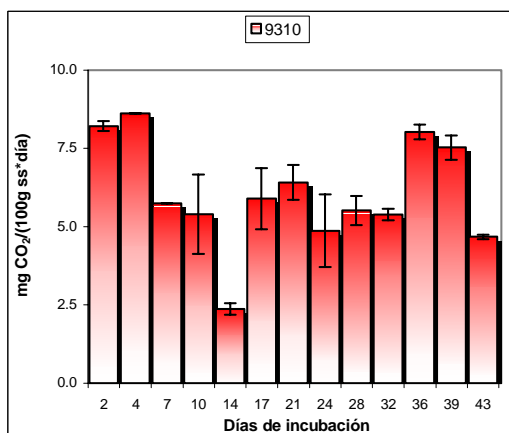


Gráfico L105

**Gráficas L101-L105:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de CO<sub>2</sub> por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 10°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L101: humedad del 23%.

Gráfica L102: humedad del 38%.

Gráfica L103: humedad del 46%.

Gráfica L104: humedad del 58%.

Gráfica L105: humedad del 93%.

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Prado a $15^\circ\text{C}$

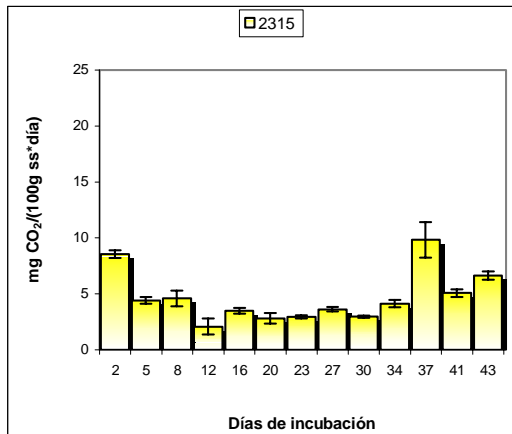


Gráfico L106

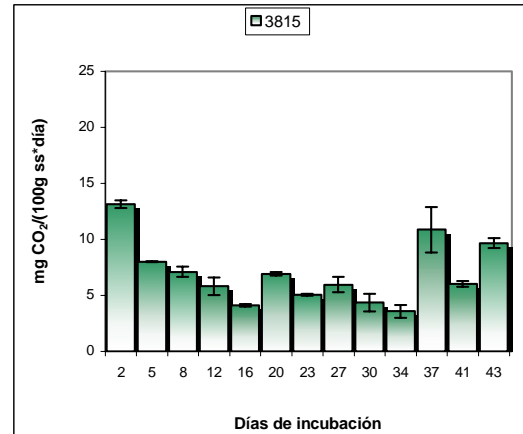


Gráfico L107

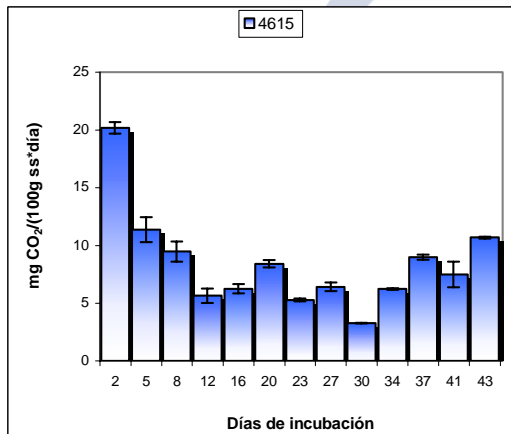


Gráfico L108

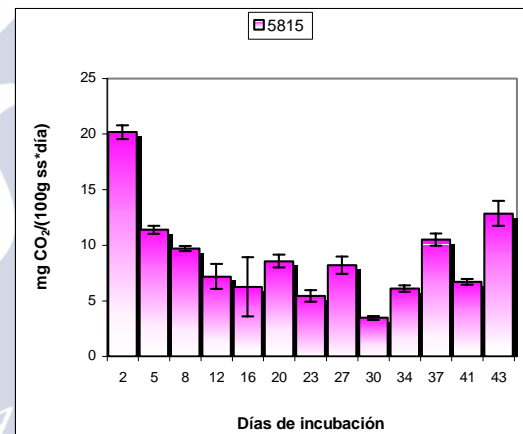


Gráfico L109

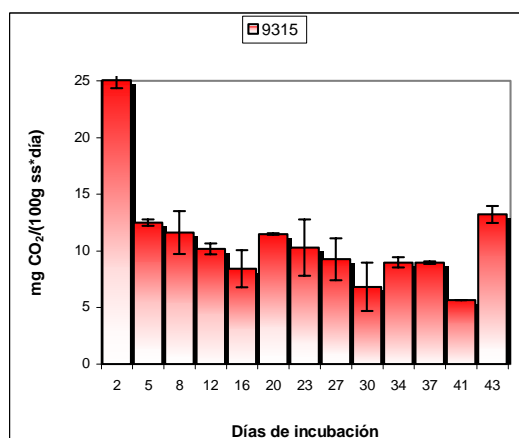


Gráfico L110

**Gráficas L106-L110:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de  $15^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L106: humedad del 23%.

Gráfica L107: humedad del 38%.

Gráfica L108: humedad del 46%.

Gráfica L109: humedad del 58%.

Gráfica L110: humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Prado a 20°C

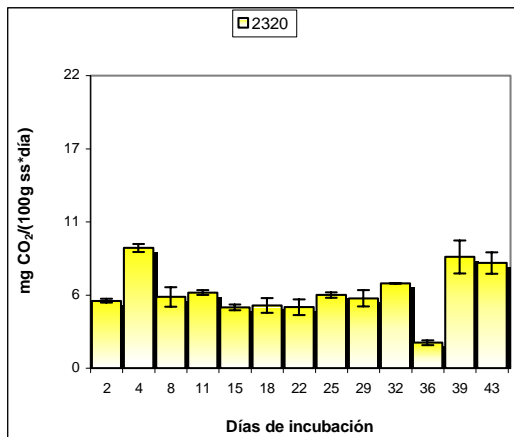


Gráfico L111

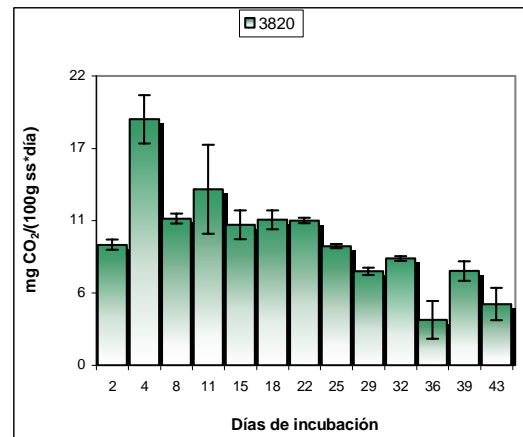


Gráfico L112

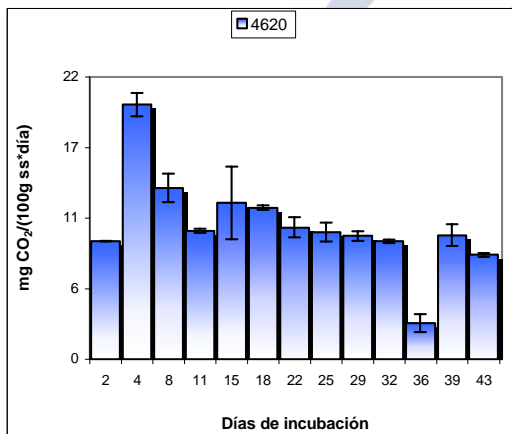


Gráfico L113

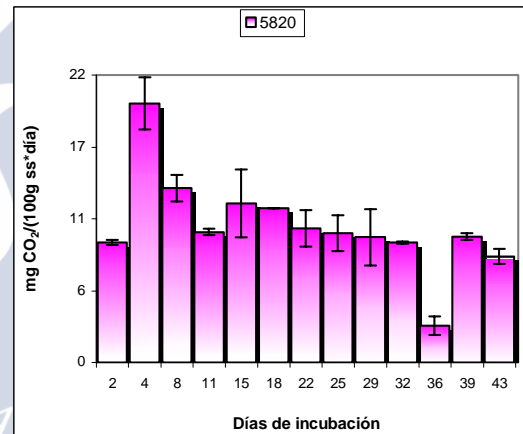


Gráfico L114

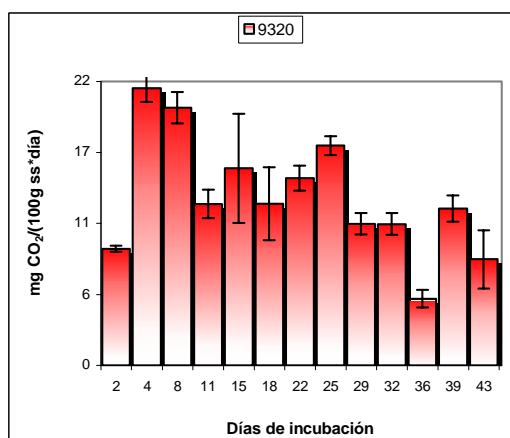


Gráfico L115

**Gráficas L111-L115:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 20°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L111: humedad del 23%.

Gráfica L112: humedad del 38%.

Gráfica L113: humedad del 46%.

Gráfica L114: humedad del 58%.

Gráfica L115: humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Prado a 25°C

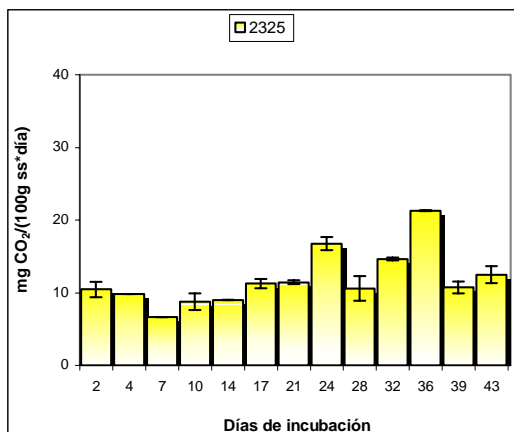


Gráfico L116

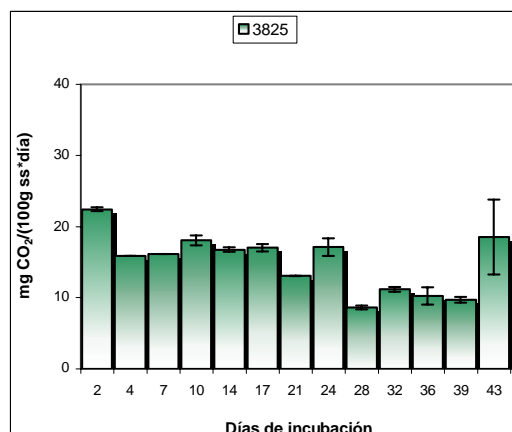


Gráfico L117

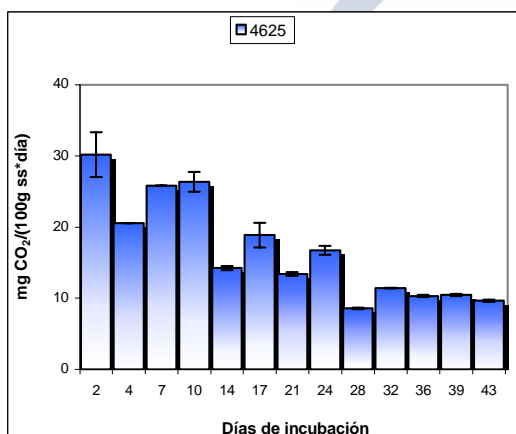


Gráfico L118

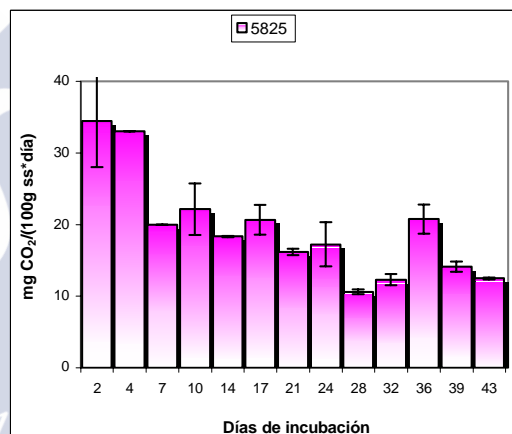


Gráfico L119

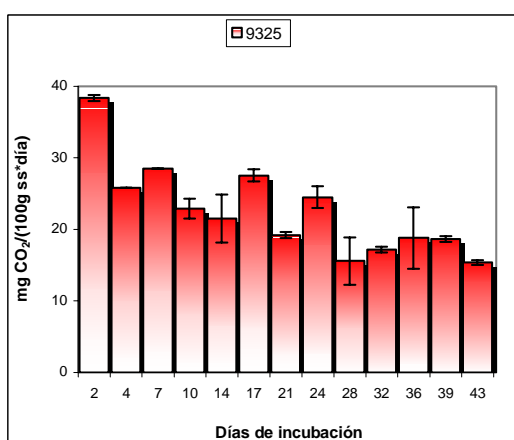


Gráfico L120

**Gráficas L116-L120:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 25°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L116: humedad del 23%.

Gráfica L117: humedad del 38%.

Gráfica L118: humedad del 46%.

Gráfica L119: humedad del 58%.

Gráfica L120: humedad del 93%



## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Prado a $30^\circ\text{C}$

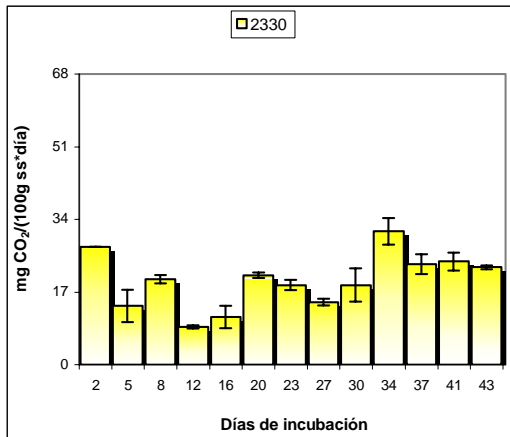


Gráfico L121

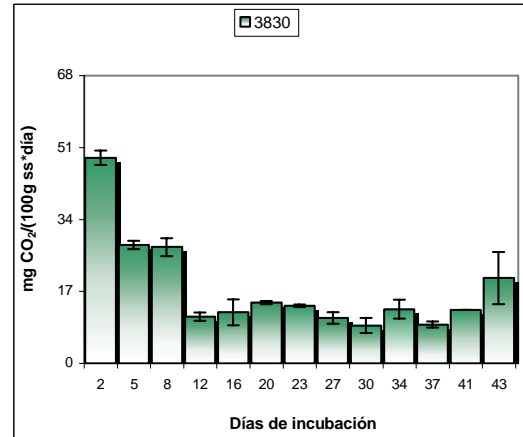


Gráfico L122

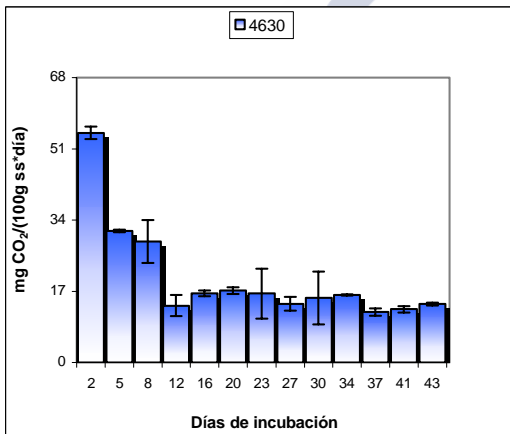


Gráfico L123

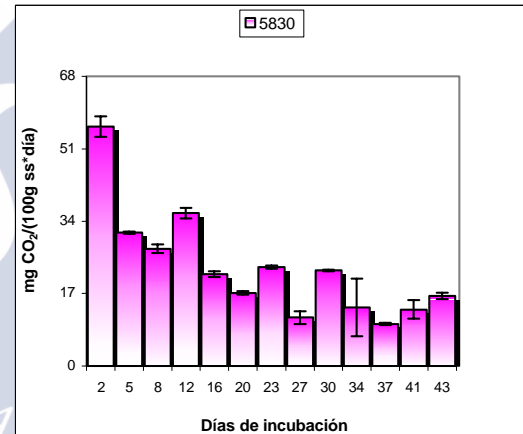


Gráfico L124

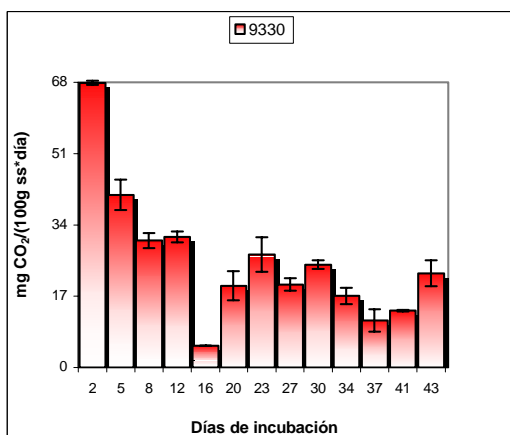


Gráfico L125

**Gráficas L121-L125:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de  $30^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L121: humedad del 23%.

Gráfica L122: humedad del 38%.

Gráfica L123: humedad del 46%.

Gráfica L124: humedad del 58%.

Gráfica L125: humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Prado a $35^\circ\text{C}$

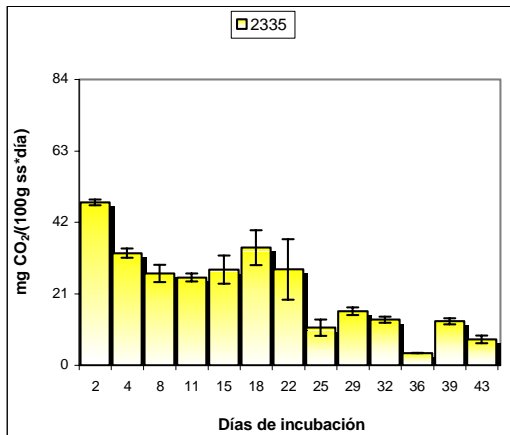


Gráfico L126

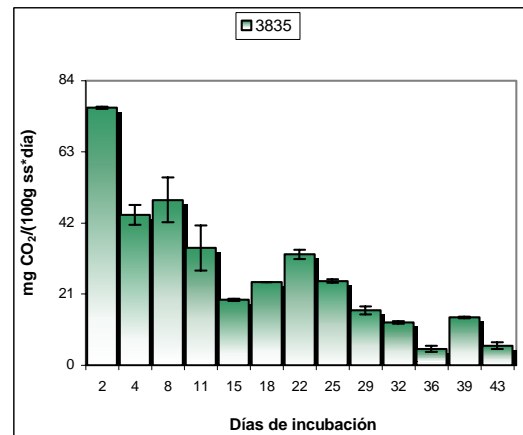


Gráfico L127

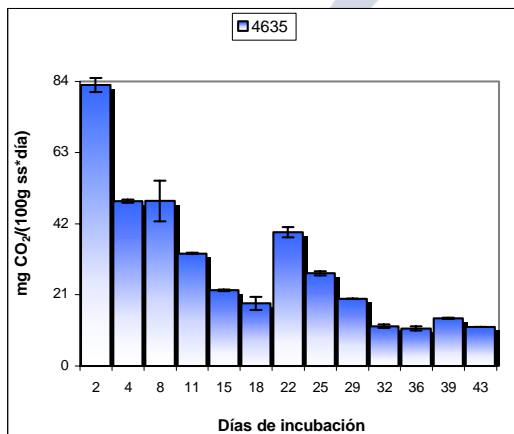


Gráfico L128

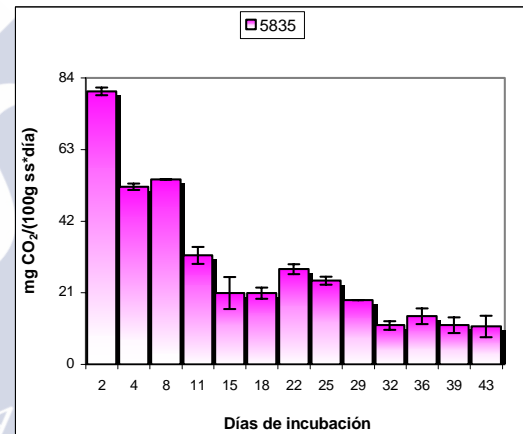


Gráfico L129

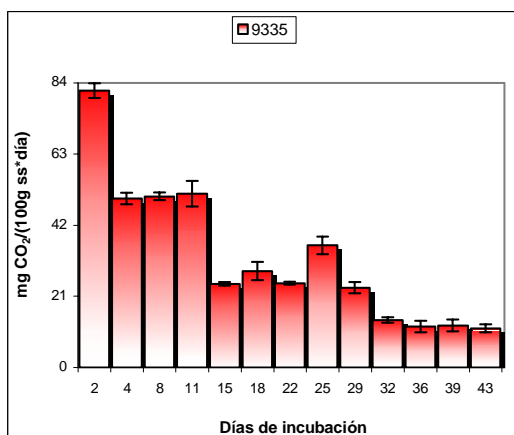


Gráfico L130

**Gráficas L126-L130:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de  $35^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L126: humedad del 23%.

Gráfica L127: humedad del 38%.

Gráfica L128: humedad del 46%.

Gráfica L129: humedad del 58%.

Gráfica L130: humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Prado a 10°C

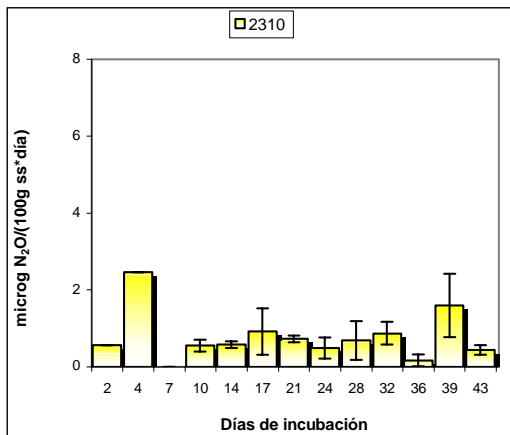


Gráfico L131

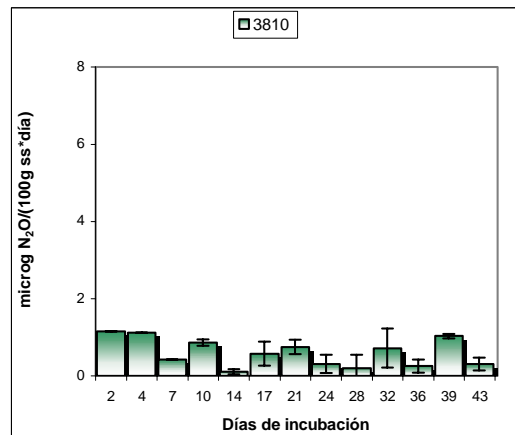


Gráfico L132

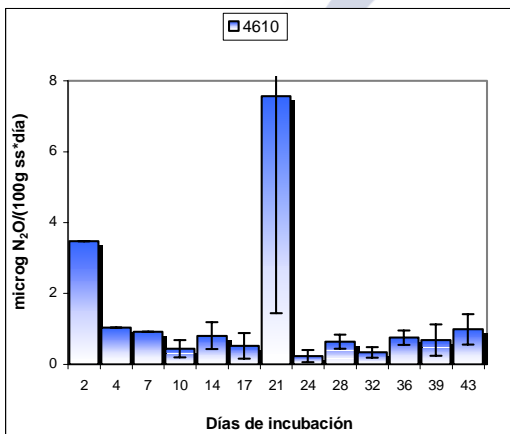


Gráfico L133

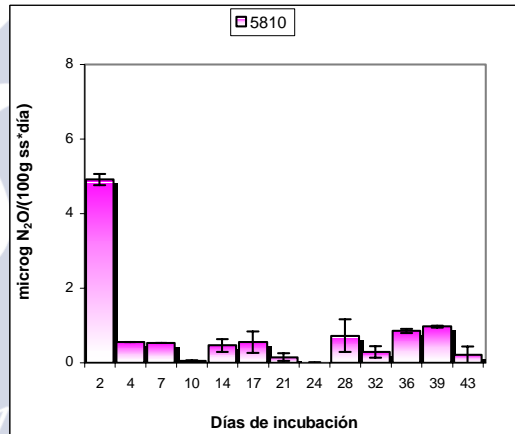


Gráfico L134

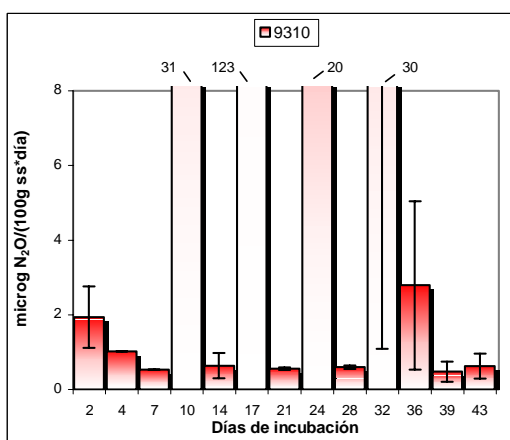


Gráfico L135

**Gráficas L131-L135:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 10°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L131: humedad del 23%.

Gráfica L132: humedad del 38%.

Gráfica L133: humedad del 46%.

Gráfica L134: humedad del 58%.

Gráfica L135: humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Prado a 15°C

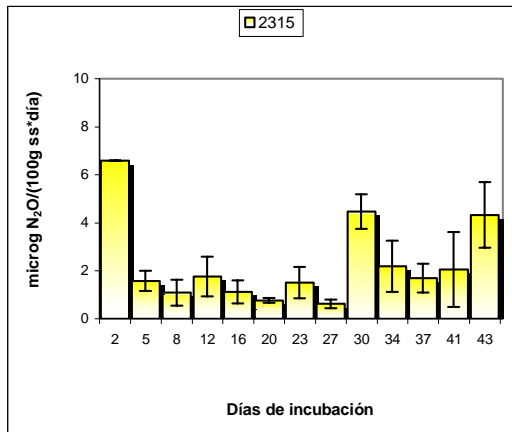


Gráfico L136

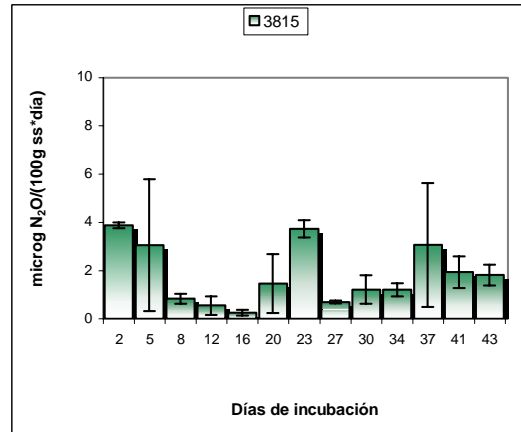


Gráfico L137

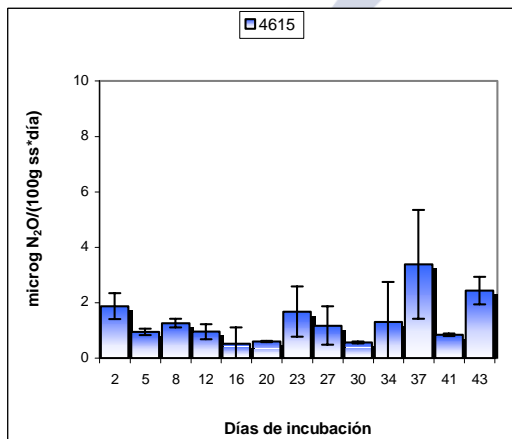


Gráfico L138

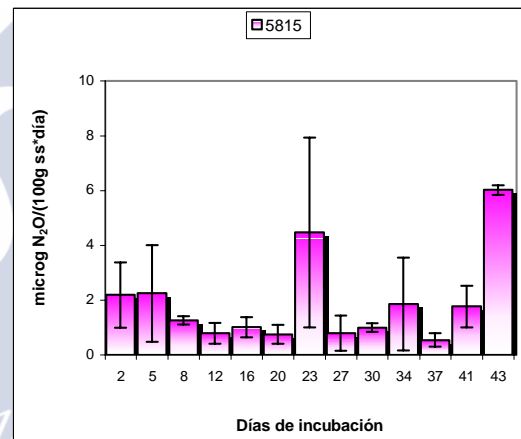


Gráfico L139

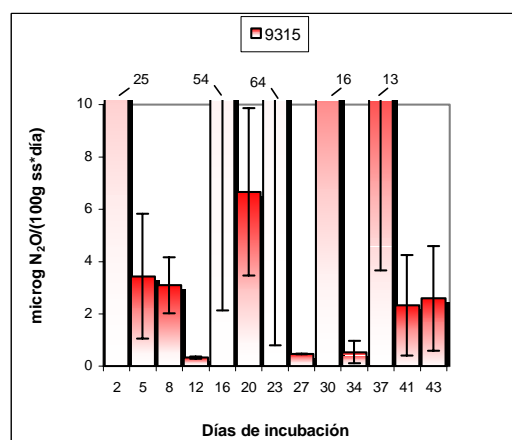


Gráfico L140

**Gráficas L136-L140:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 15°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L136: humedad del 23%.

Gráfica L137: humedad del 38%.

Gráfica L138: humedad del 46%.

Gráfica L139: humedad del 58%.

Gráfica L140: humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Prado a 20°C

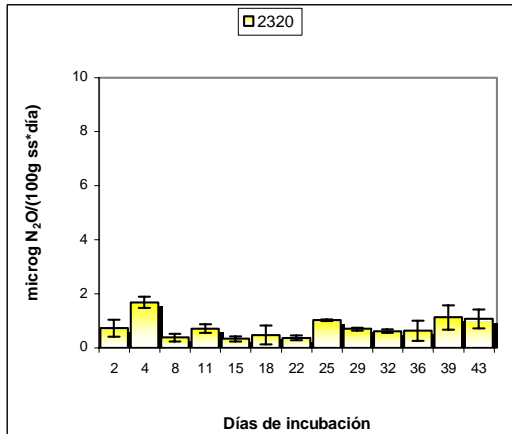


Gráfico L141

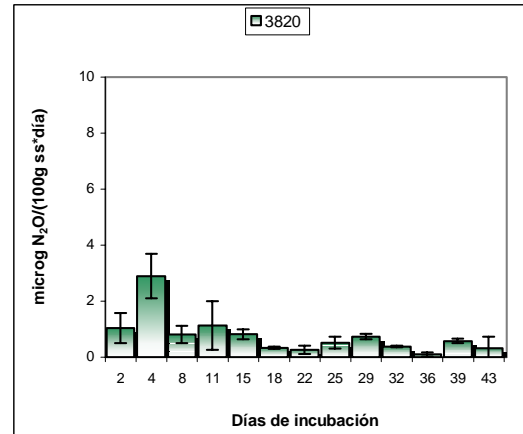


Gráfico L142

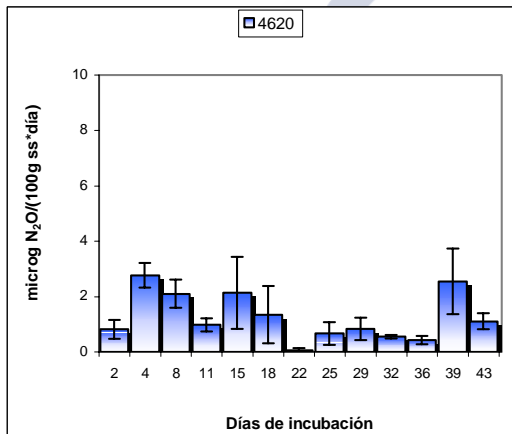


Gráfico L143

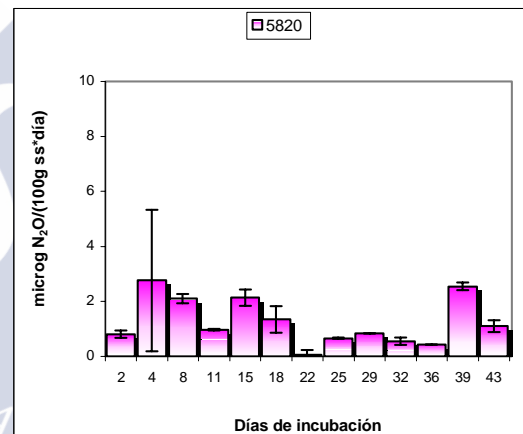


Gráfico L144

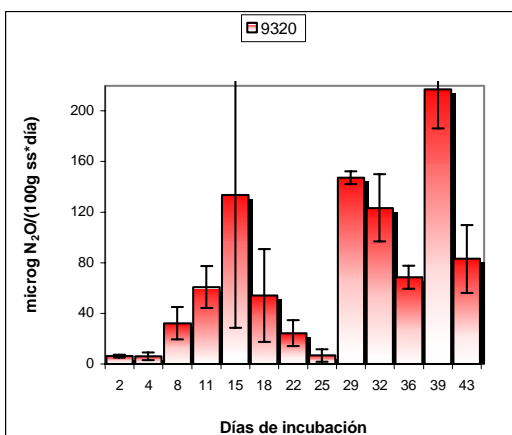


Gráfico L145

**Gráficas L141-L145:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 20°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L141: humedad del 23%.

Gráfica L142: humedad del 38%.

Gráfica L143: humedad del 46%.

Gráfica L144: humedad del 58%.

Gráfica L145: humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Prado a 25°C

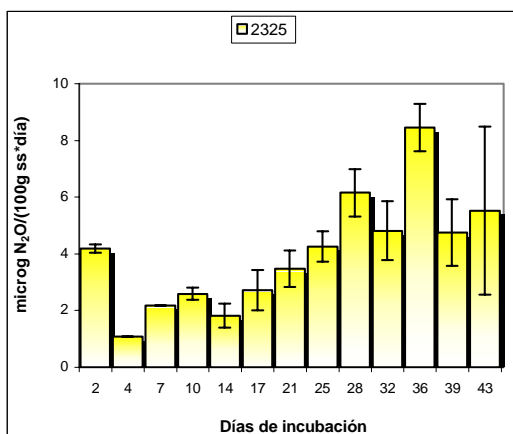


Gráfico L146

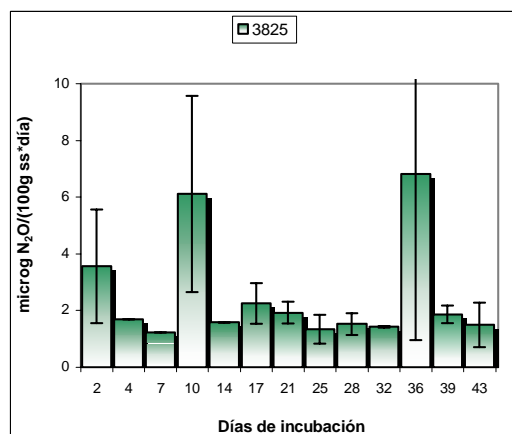


Gráfico L147

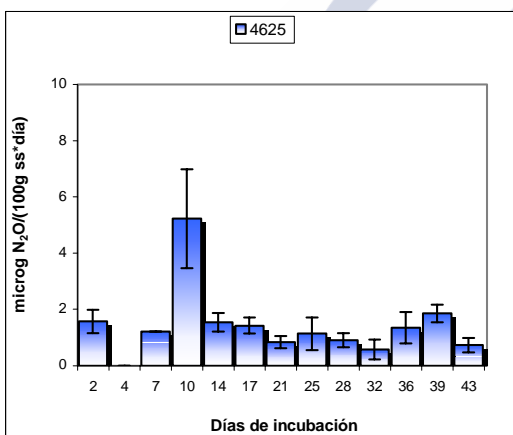


Gráfico L148

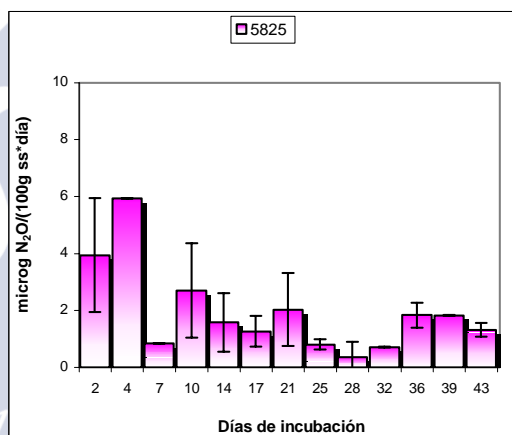


Gráfico L149

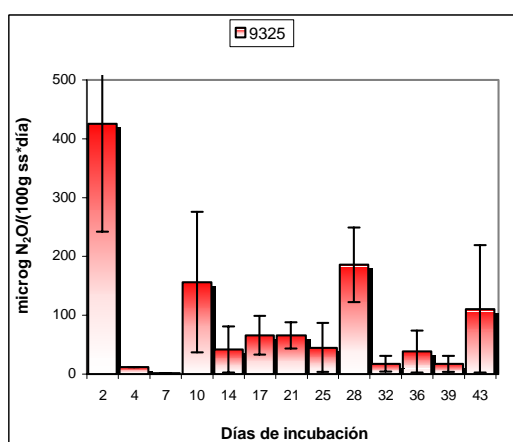


Gráfico L150

**Gráficas L146-L150:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 25°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L146: humedad del 23%.

Gráfica L147: humedad del 38%.

Gráfica L148: humedad del 46%.

Gráfica L149: humedad del 58%.

Gráfica L150: humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Prado a 30°C

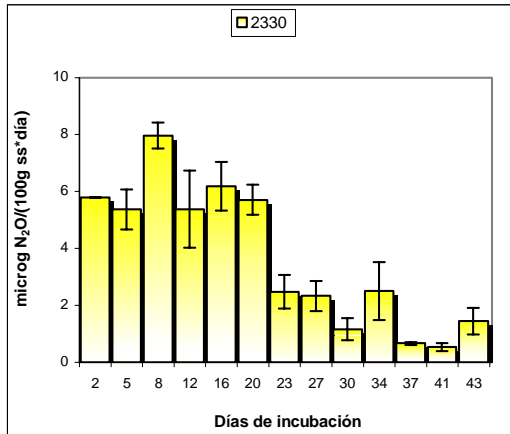


Gráfico L151

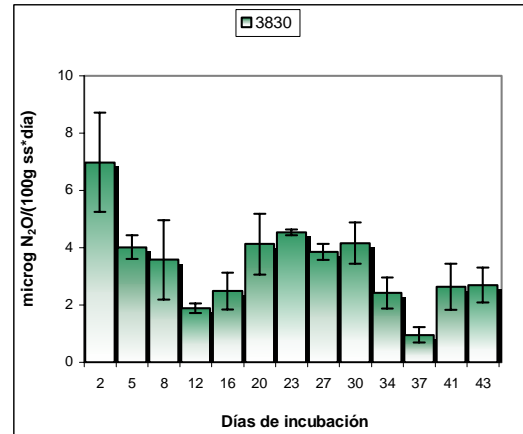


Gráfico L152

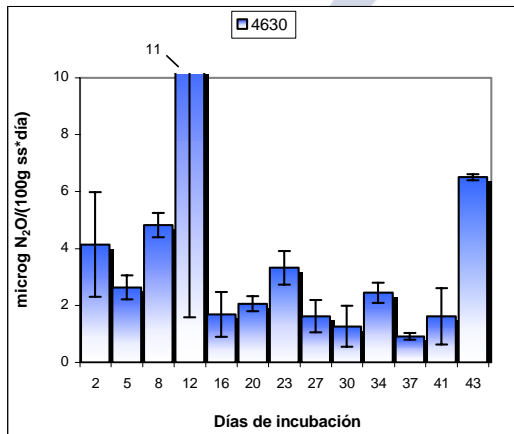


Gráfico L153

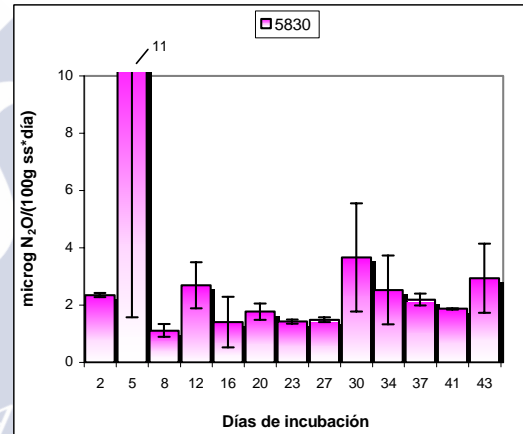


Gráfico L154

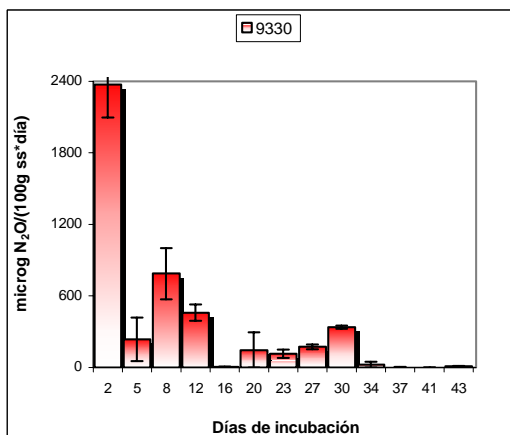


Gráfico L155

**Gráficas L151-L155:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 30°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L151: humedad del 23%.

Gráfica L152: humedad del 38%.

Gráfica L153: humedad del 46%.

Gráfica L154: humedad del 58%.

Gráfica L155: humedad del 93%



## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Prado a 35°C

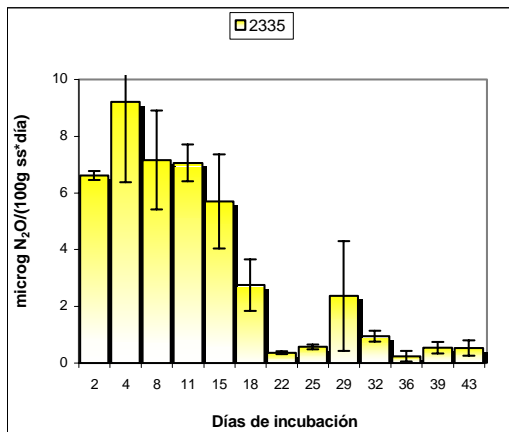


Gráfico L156

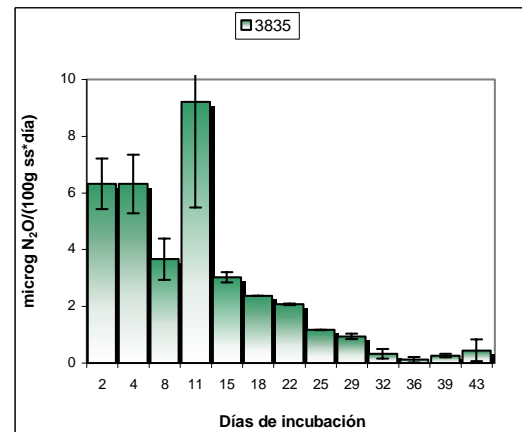


Gráfico L157

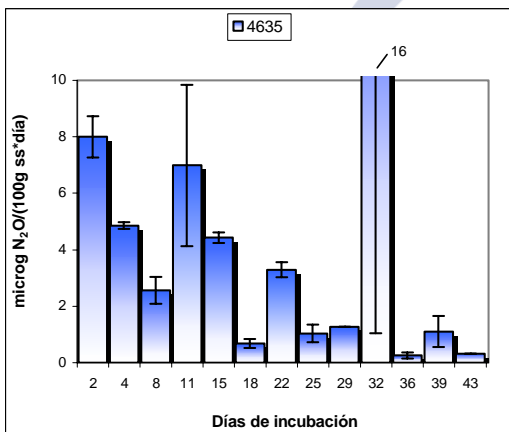


Gráfico L158

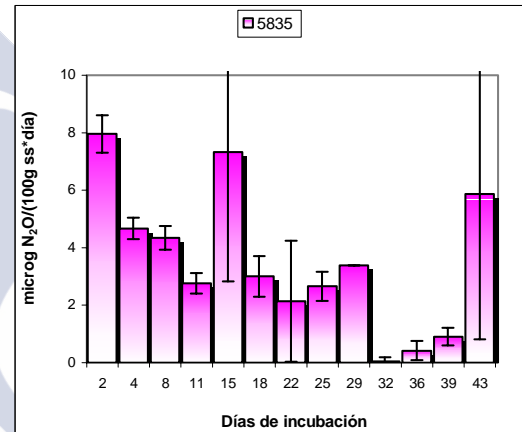


Gráfico L159

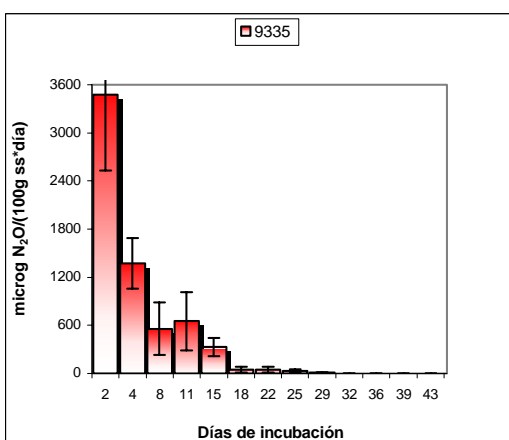


Gráfico L160

**Gráficas L156-L160:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PRADO, sometido a una temperatura de 35°C con cinco niveles de humedad diferentes:

**Gráfica L156:** humedad del 23%.

**Gráfica L157:** humedad del 38%.

**Gráfica L158:** humedad del 46%.

**Gráfica L159:** humedad del 58%.

**Gráfica L160:** humedad del 93%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Patata a $10^\circ\text{C}$

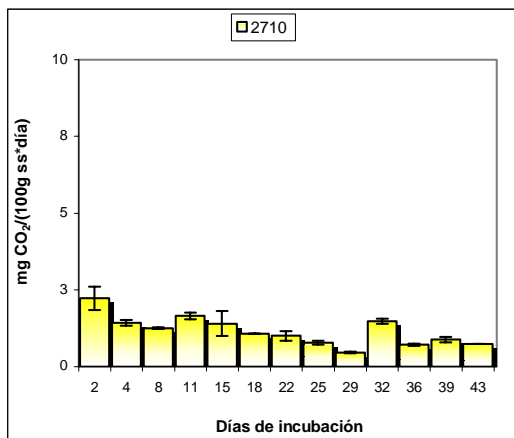


Gráfico L161

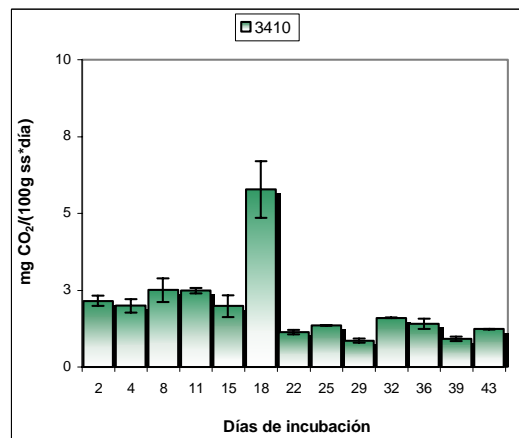


Gráfico L162

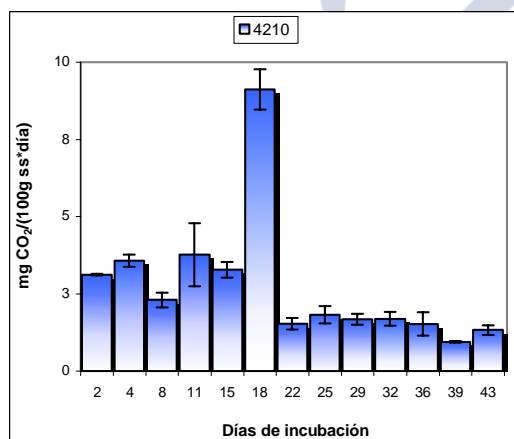


Gráfico L163

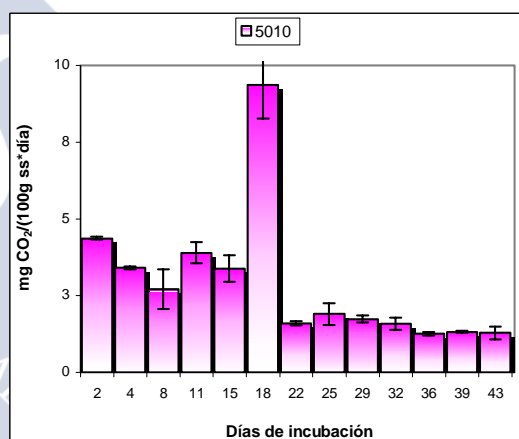


Gráfico L164

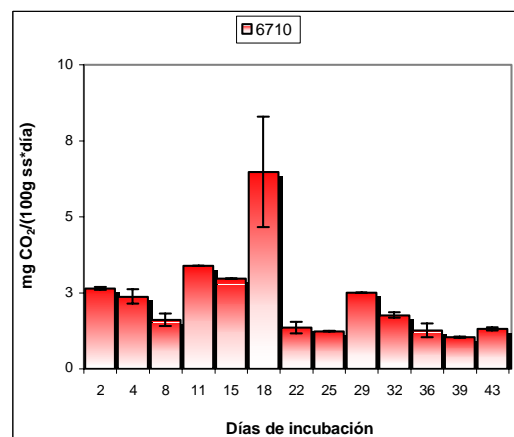


Gráfico L165

**Gráficas L161-L165:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PATATA, sometido a una temperatura de  $10^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L161: humedad del 27%.

Gráfica L162: humedad del 34%.

Gráfica L163: humedad del 42%.

Gráfica L164: humedad del 50%.

Gráfica L165: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Patata a $15^\circ\text{C}$

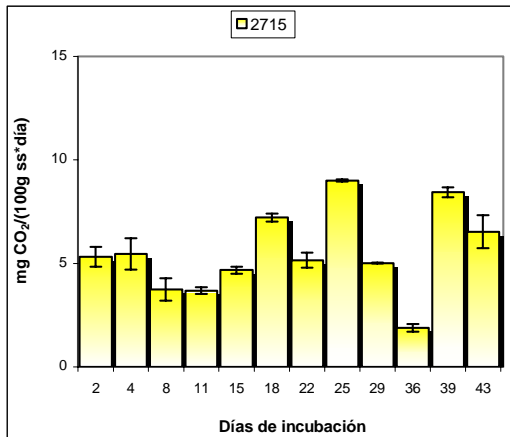


Gráfico L166

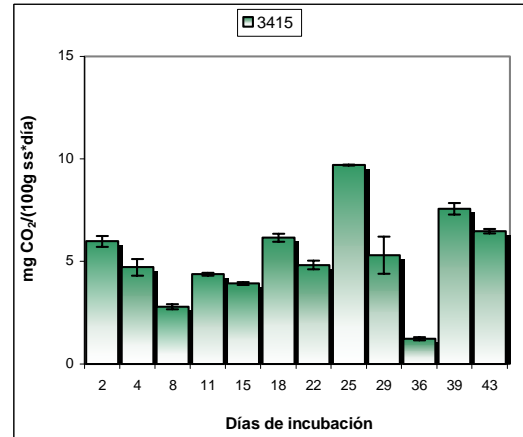


Gráfico L167

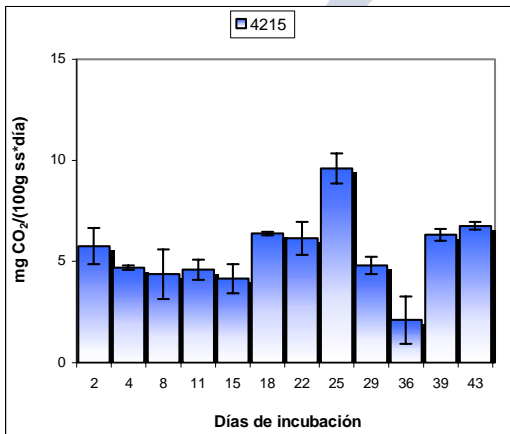


Gráfico L168

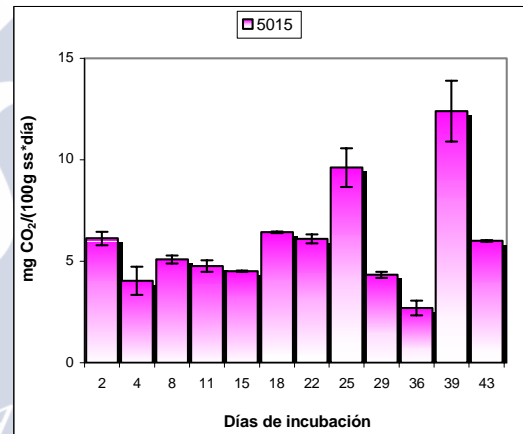


Gráfico L169

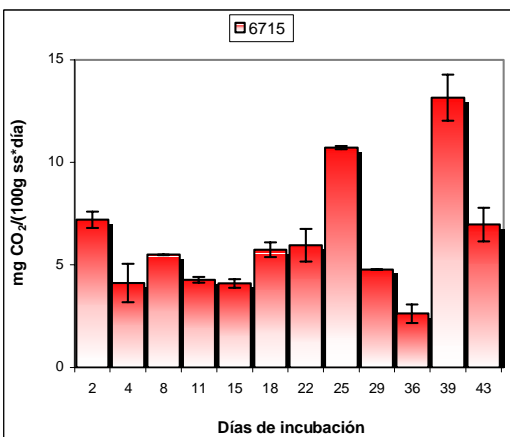


Gráfico L170

**Gráficas L166-L170:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PATATA, sometido a una temperatura de  $15^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L166: humedad del 27%.

Gráfica L167: humedad del 34%.

Gráfica L168: humedad del 42%.

Gráfica L169: humedad del 50%.

Gráfica L170: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Patata a $20^\circ\text{C}$

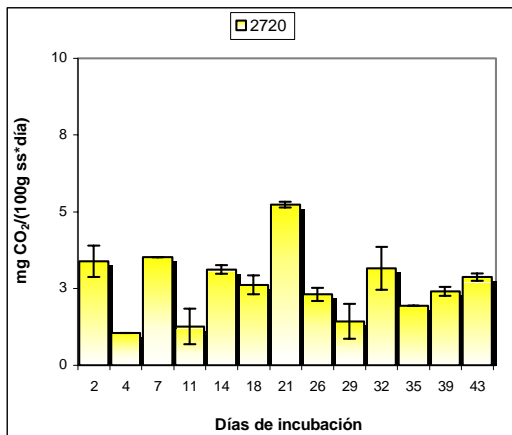


Gráfico L171

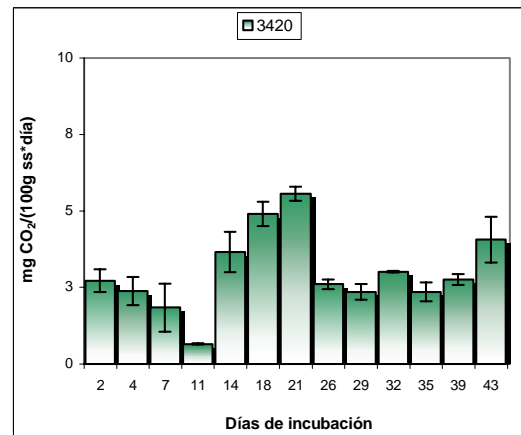


Gráfico L172

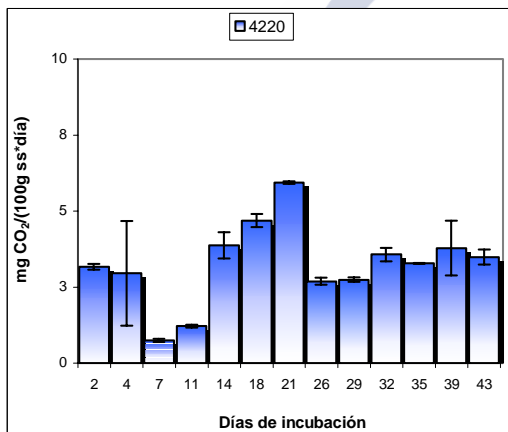


Gráfico L173

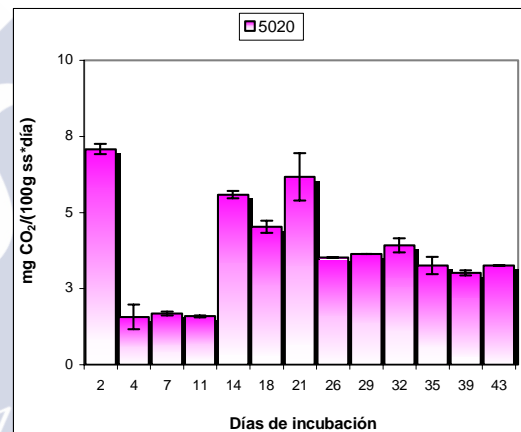


Gráfico L174

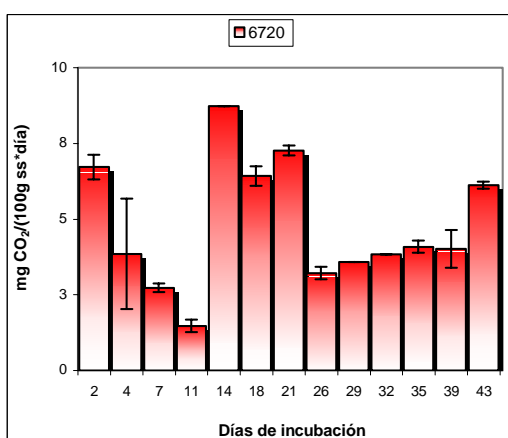


Gráfico L175

**Gráficas L171-L175:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PATATA, sometido a una temperatura de  $20^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L171: humedad del 27%.

Gráfica L172: humedad del 34%.

Gráfica L173: humedad del 42%.

Gráfica L174: humedad del 50%.

Gráfica L175: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Patata a $25^\circ\text{C}$

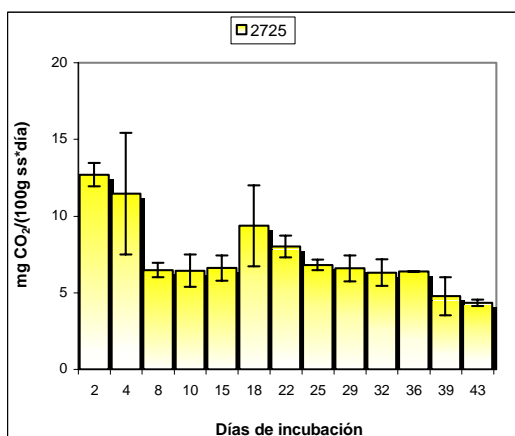


Gráfico L176

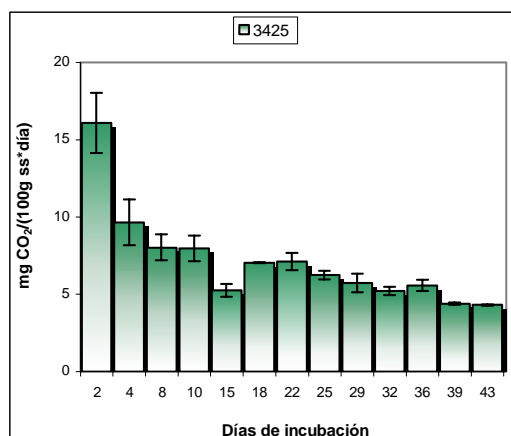


Gráfico L177

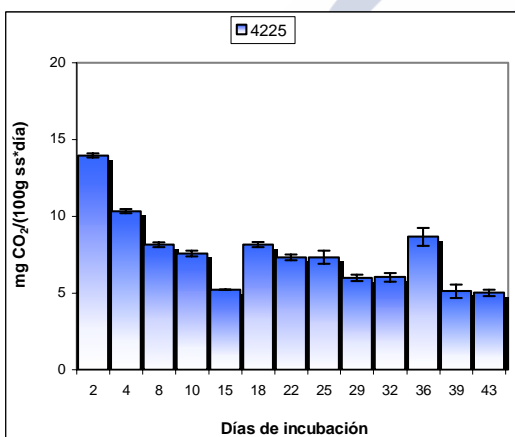


Gráfico L178

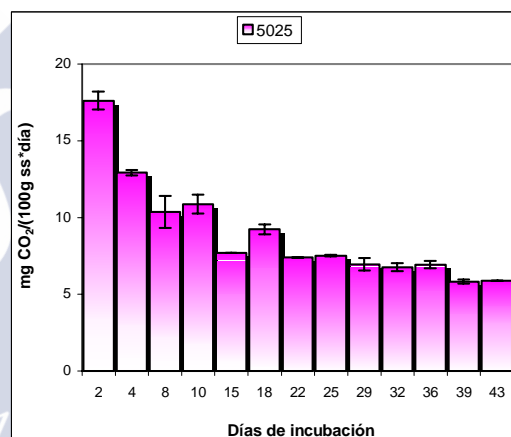


Gráfico L179

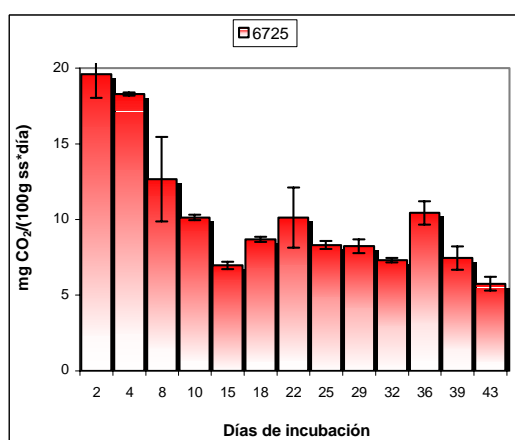


Gráfico L180

**Gráficas L176-L180:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de  **$25^\circ\text{C}$**  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L176: humedad del 27%.

Gráfica L177: humedad del 34%.

Gráfica L178: humedad del 42%.

Gráfica L179: humedad del 50%.

Gráfica L180: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Patata a $30^\circ\text{C}$

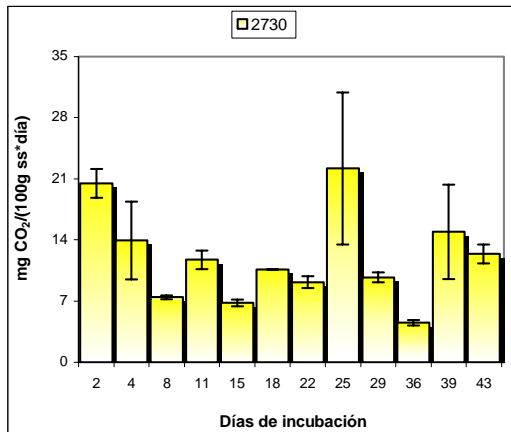


Gráfico L181

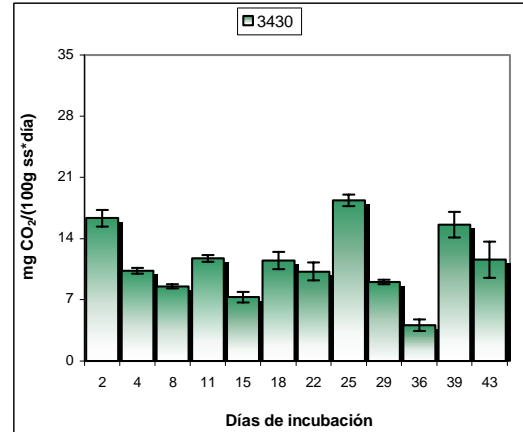


Gráfico L182

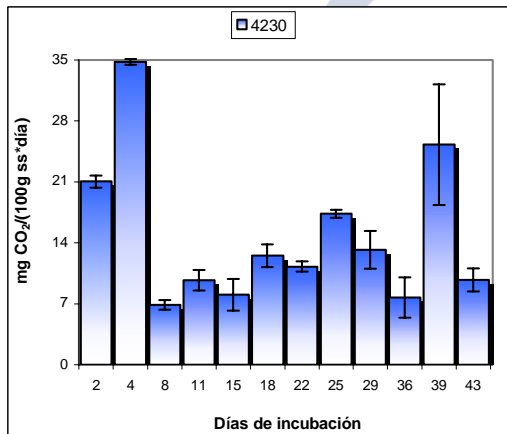


Gráfico L183

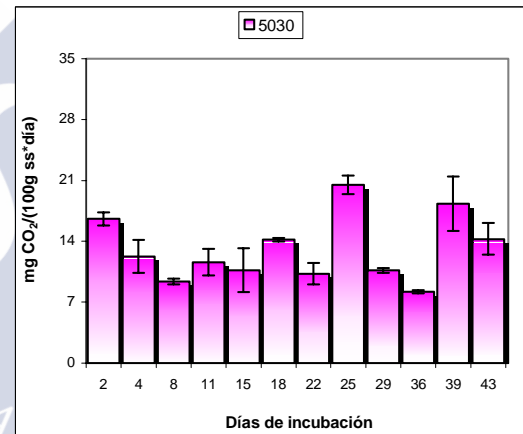


Gráfico L184

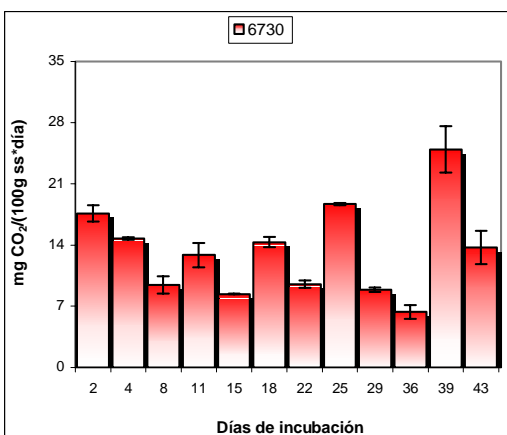


Gráfico L185

**Gráficas L181-L185:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PATATA, sometido a una temperatura de  $30^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L181: humedad del 27%.

Gráfica L182: humedad del 34%.

Gráfica L183: humedad del 42%.

Gráfica L184: humedad del 50%.

Gráfica L185: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $\text{CO}_2$ por el Suelo de Patata a $35^\circ\text{C}$

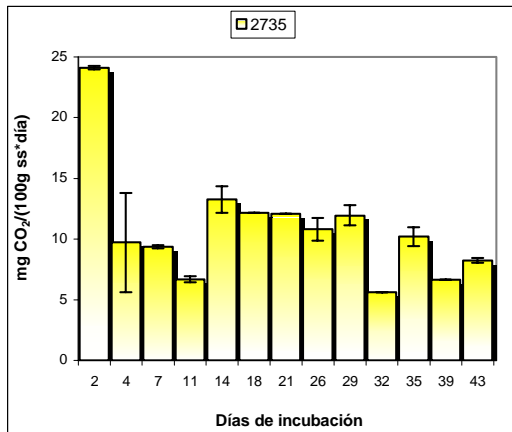


Gráfico L186

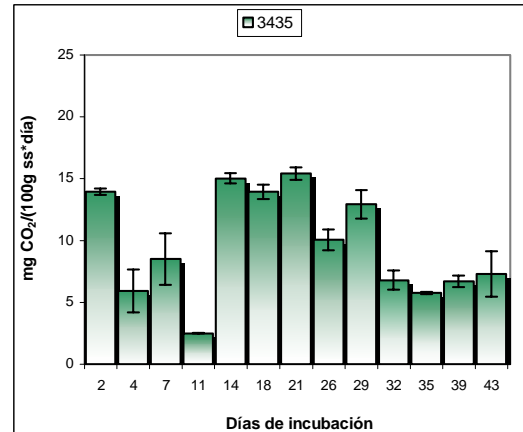


Gráfico L187

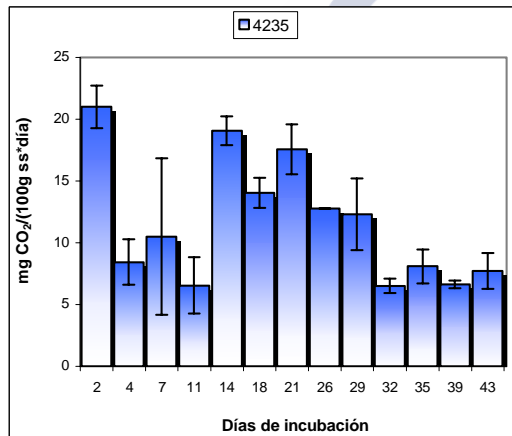


Gráfico L188

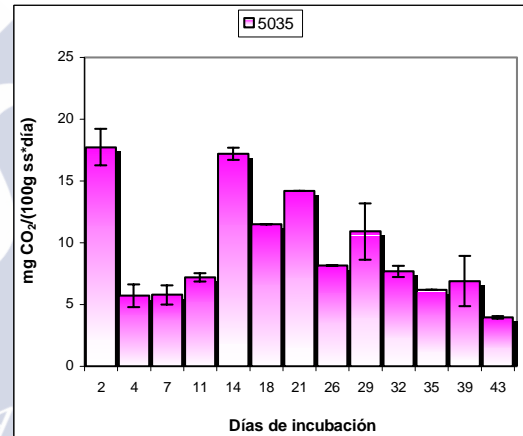


Gráfico L189

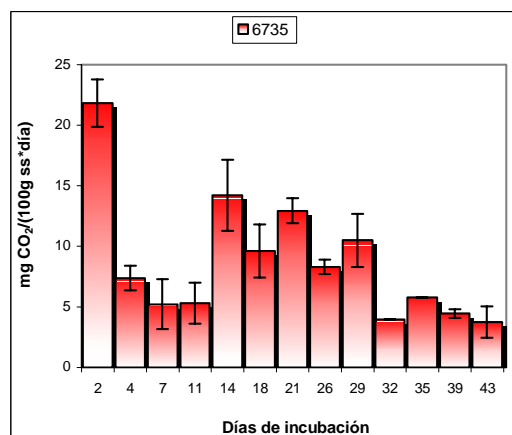


Gráfico L190

**Gráficas L186-L190:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $\text{CO}_2$  por día y por 100 g suelo (ss) de PATATA, sometido a una temperatura de  $35^\circ\text{C}$  con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L186: humedad del 27%.

Gráfica L187: humedad del 34%.

Gráfica L188: humedad del 42%.

Gráfica L189: humedad del 50%.

Gráfica L190: humedad del 67%



## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Patata a 10°C

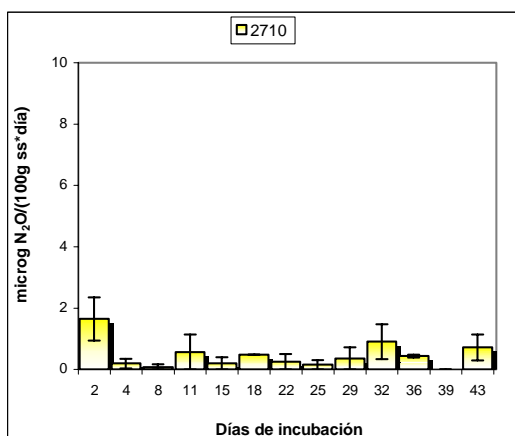


Gráfico L191

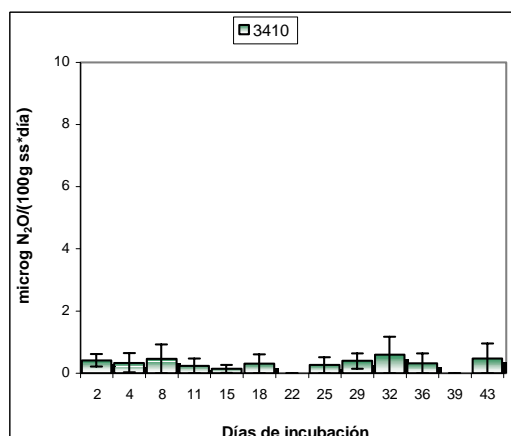


Gráfico L192

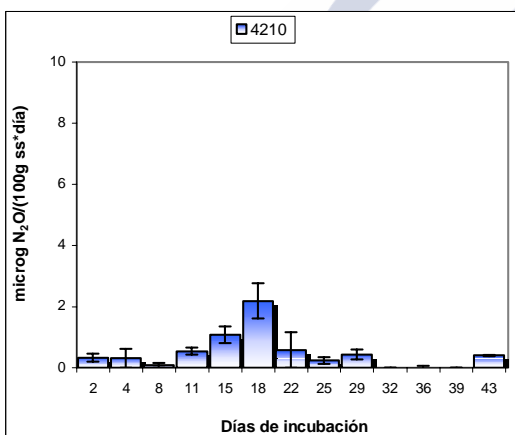


Gráfico L193

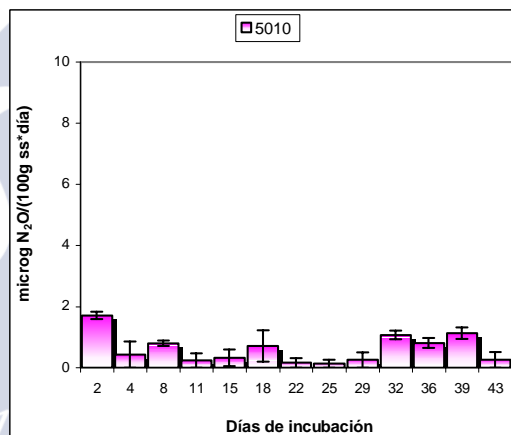


Gráfico L194

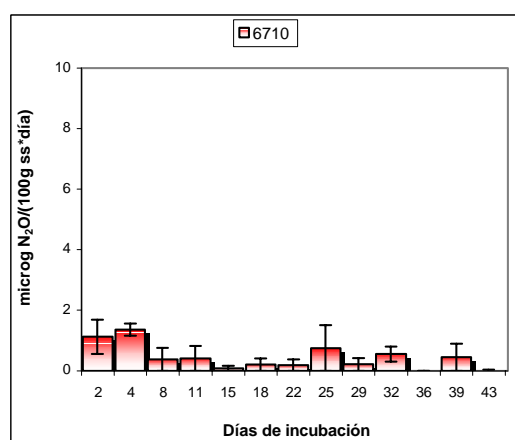


Gráfico L195

**Gráficas L191-L195:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de 10°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L191: humedad del 27%.

Gráfica L192: humedad del 34%.

Gráfica L193: humedad del 42%.

Gráfica L194: humedad del 50%.

Gráfica L195: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Patata a 15°C

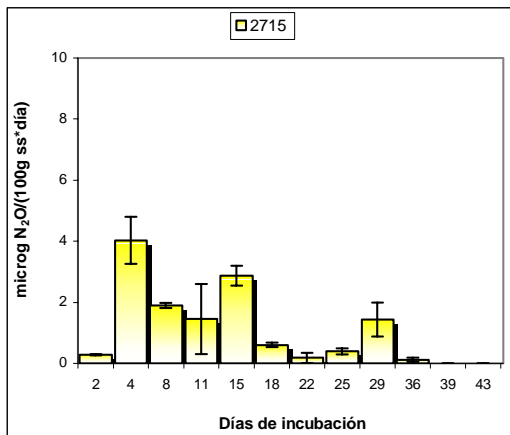


Gráfico L196

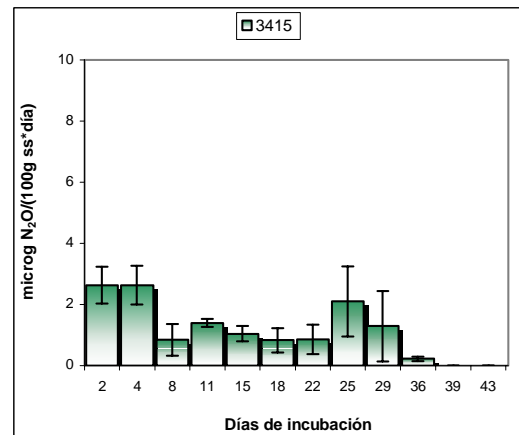


Gráfico L197

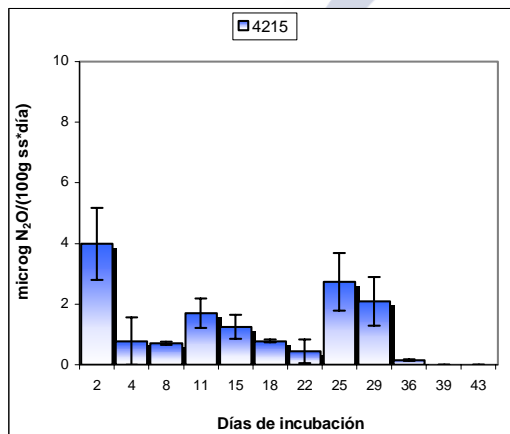


Gráfico L198

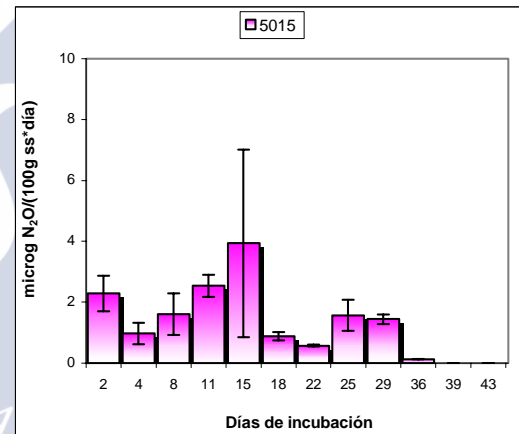


Gráfico L199

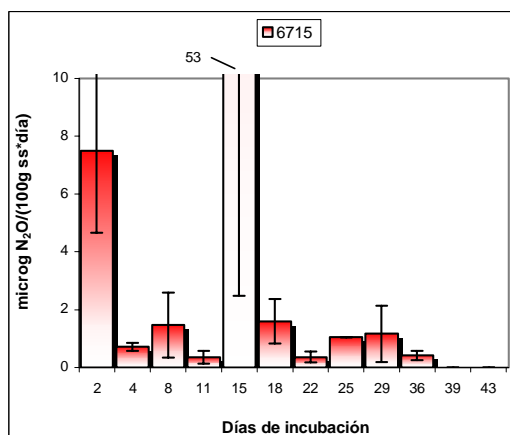


Gráfico L200

**Gráficas L196-L200:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de 15°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L196: humedad del 27%.

Gráfica L197: humedad del 34%.

Gráfica L198: humedad del 42%.

Gráfica L199: humedad del 50%.

Gráfica L200: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Patata a 20°C

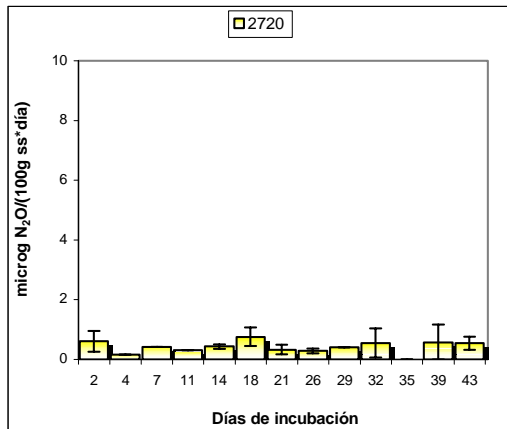


Gráfico L201

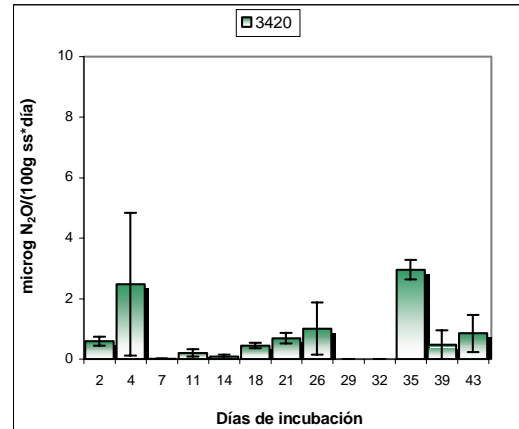


Gráfico L202

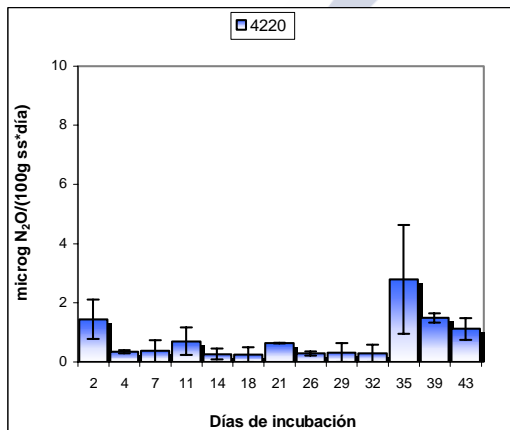


Gráfico L203

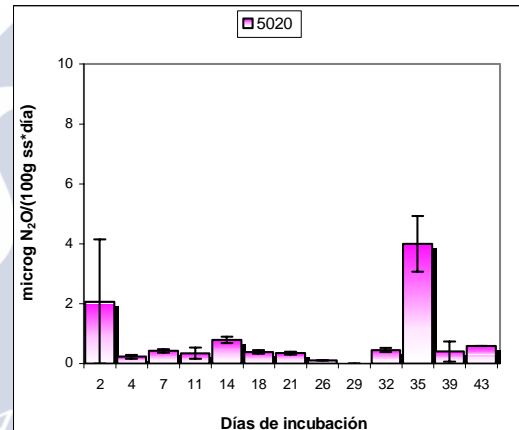


Gráfico L204

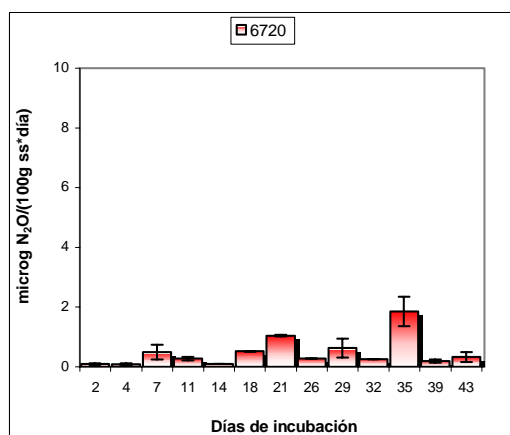


Gráfico L205

**Gráficas L201-L205:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PATATA, sometido a una temperatura de 20°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L201: humedad del 27%.

Gráfica L202: humedad del 34%.

Gráfica L203: humedad del 42%.

Gráfica L204: humedad del 50%.

Gráfica L205: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Patata a 25°C

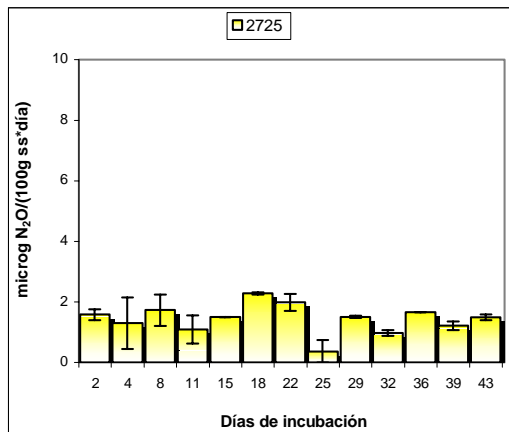


Gráfico L206

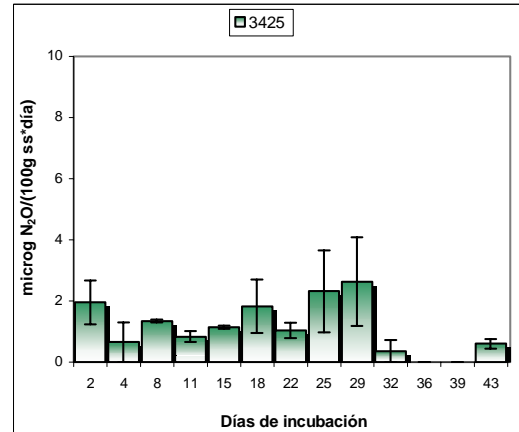


Gráfico L207

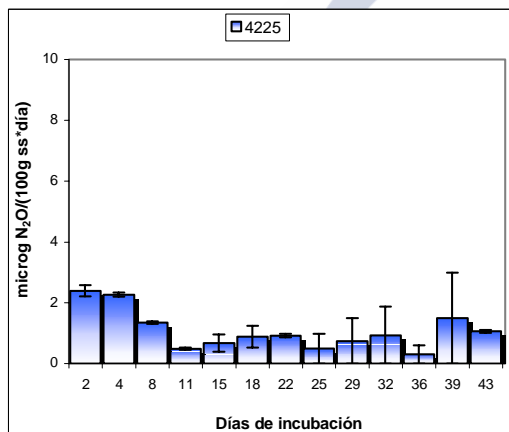


Gráfico L208

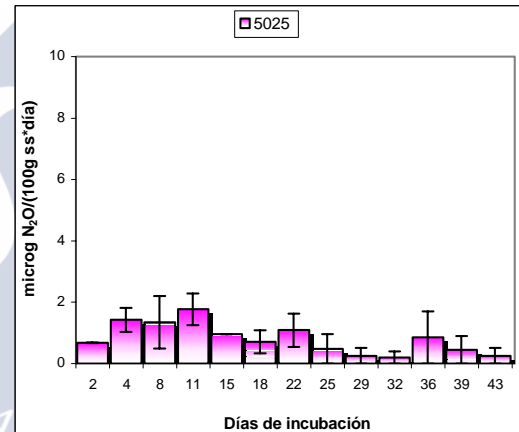


Gráfico L209

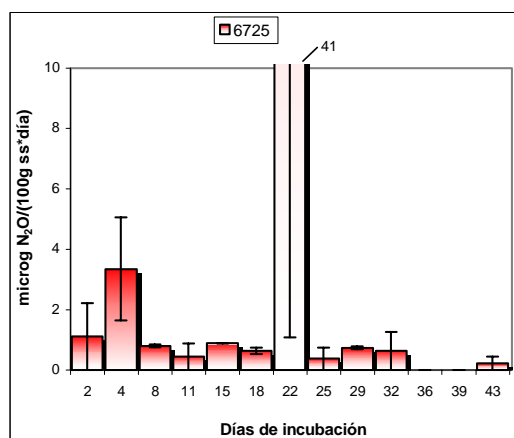


Gráfico L210

**Gráficas L206-L210:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PATATA, sometido a una temperatura de 25°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L206: humedad del 27%.

Gráfica L207: humedad del 34%.

Gráfica L208: humedad del 42%.

Gráfica L209: humedad del 50%.

Gráfica L210: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Patata a 30°C

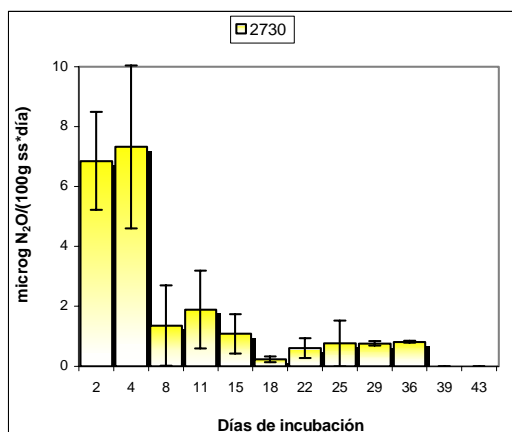


Gráfico L211

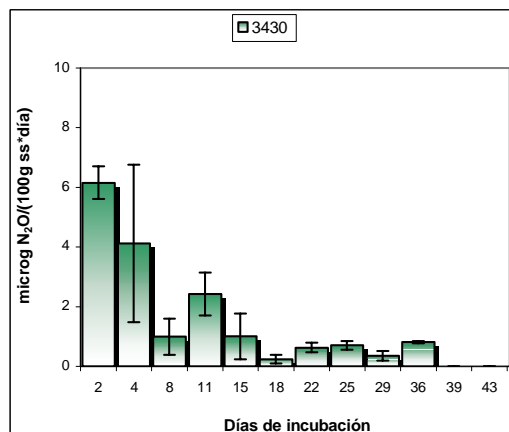


Gráfico L212

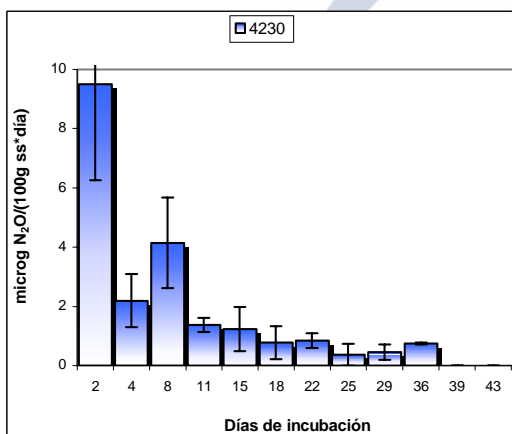


Gráfico L213

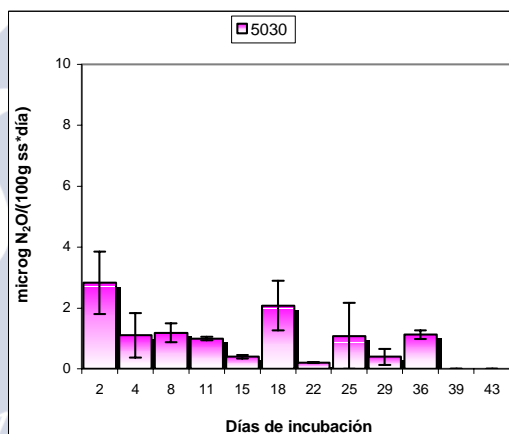


Gráfico L214

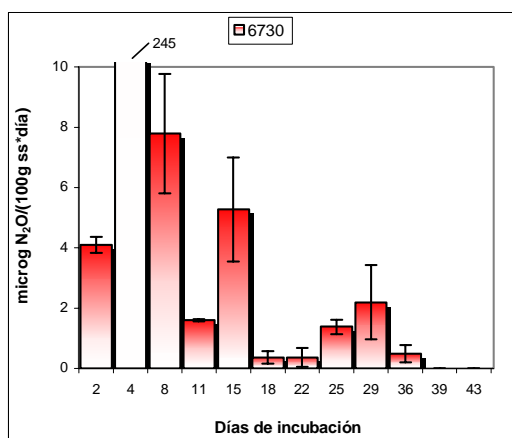


Gráfico L215

**Gráficas L211-L215:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de PATATA, sometido a una temperatura de 30°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L211: humedad del 27%.

Gráfica L212: humedad del 34%.

Gráfica L213: humedad del 42%.

Gráfica L214: humedad del 50%.

Gráfica L215: humedad del 67%

## Cinéticas de desprendimiento de $N_2O$ por el Suelo de Patata a 35°C

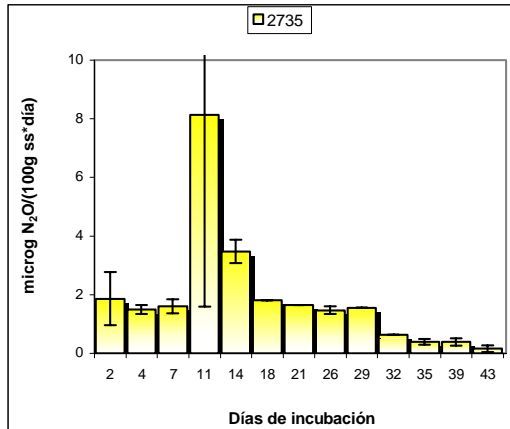


Gráfico L216

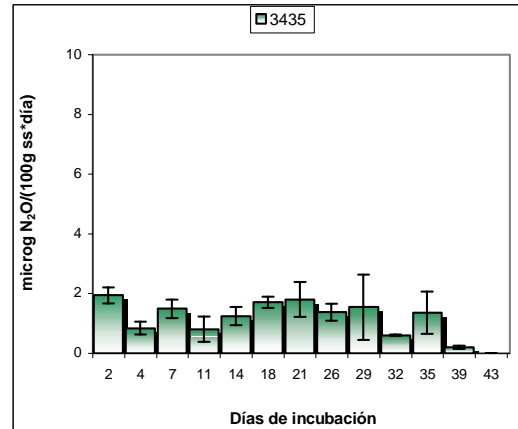


Gráfico L217

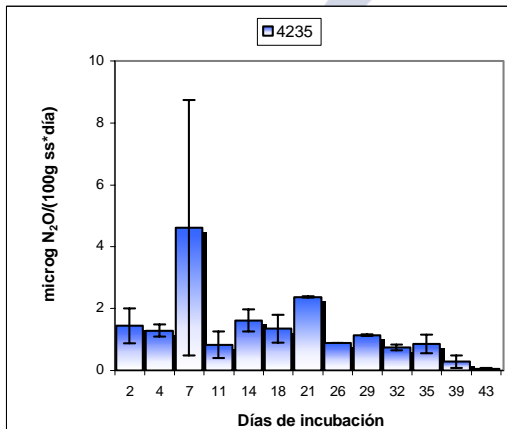


Gráfico L218

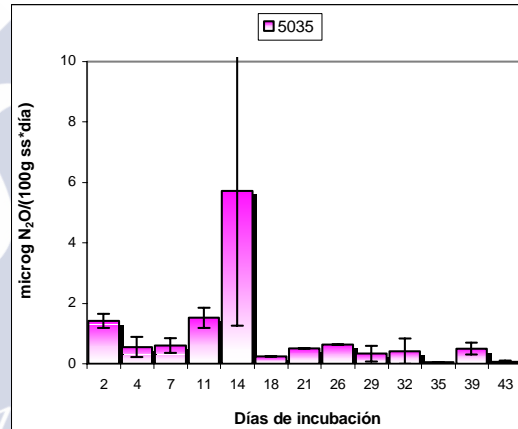


Gráfico L219

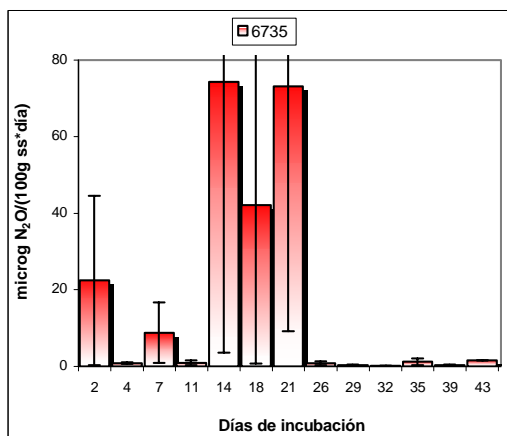


Gráfico L220

**Gráficas L216-L220:** velocidades de desprendimiento expresadas en mg de  $N_2O$  por día y por 100 g suelo (ss) de **PATATA**, sometido a una temperatura de 35°C con cinco niveles de humedad diferentes:

Gráfica L216: humedad del 27%.

Gráfica L217: humedad del 34%.

Gráfica L218: humedad del 42%.

Gráfica L219: humedad del 50%.

Gráfica L220: humedad del 67%

#### V.10.4.- Medidas acumuladas:

Se han construido las curvas acumulativas correspondientes al  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  desprendidos a lo largo del tiempo de incubación. Estas gráficas dan una idea de la cantidad total que, de cada uno de estos gases, ha sido liberado desde el tiempo cero de una incubación hasta el momento en que tiene lugar la medida. Para que puedan ser evaluados comparativamente los resultados obtenidos en las diferentes condiciones de incubación, se han representado conjuntamente y tanto para el  $\text{CO}_2$  como para el  $\text{N}_2\text{O}$ :

i) **Gráficas** donde se mantiene la **TEMPERATURA CONSTANTE**, es decir, donde se representan las curvas de emisión acumulada correspondientes a las distintas humedades de un mismo suelo y para una determinada temperatura de incubación. De esta manera:

- ★ Los datos de emisión acumulada de  $\text{CO}_2$  correspondientes al **suelo de Forcarei** se pueden visualizar en las **gráficas L221-L224** y de  $\text{N}_2\text{O}$  en las **gráficas L230-L233**. Cada una de las gráficas se corresponde con una de las temperaturas de incubación a que, el suelo de Forcarei ha sido sometido siguiendo el diseño experimental definitivo (15, 20, 30 y 35°C, para ambos gases).
- ★ Los datos de emisión acumulada de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  correspondientes a las seis temperaturas de incubación utilizadas para el **suelo de Prado** se representan en las **gráficas L239-244** y **L250-255** respectivamente.
- ★ En los grupo de **gráficas L261-266** y **L272-277** se representan respectivamente los datos de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  acumulado, que ha sido emitido desde el **suelo de Patata**, en las seis condiciones de temperatura diferentes a las que ha sido sometido en las distintas incubaciones que se han llevado a cabo.

ii) **Gráficas** donde se mantiene la **HUMEDAD CONSTANTE**, es decir, donde se representan las curvas de emisión acumulada correspondientes a las distintas temperaturas a las que ha sido sometido un tipo de suelo que posee un mismo nivel de humedad. Estas gráficas son muy útiles sobre todo para el  $\text{N}_2\text{O}$ , ya que cuando los porcentajes de humedad son muy altos, la emisión de este gas se dispara y se escapa de

la escala de los desprendimientos a humedades menores. Estas explosiones en la emisión de  $N_2O$  se acentúan al aumentar la temperatura de incubación. Para los tres suelos estudiados, corresponden las gráficas:

- ★ **Suelo de Forcarei:** se pueden visualizar los datos de  $CO_2$  en las **gráficas L225-L229** y del  $N_2O$  en las **gráficas L234-L238**. Para cada humedad (33, 55, 68, 85 y 136%) sólo se representan cuatro curvas acumuladas, correspondientes a las cuatro temperaturas de incubación (15, 20, 30 y 35°C) a las que ha sido sometido el suelo de Forcarei siguiendo el diseño experimental definitivo.
- ★ **Suelo de Prado:** los datos de emisión acumulada de  $CO_2$  y  $N_2O$  correspondientes a las cinco niveles de humedad (23, 38, 46, 58 y 93%) a que ha sido sometido este suelo, se representan en las **gráficas L245-249** y **L256-260** respectivamente.
- ★ **Suelo de Patata:** en los grupo de **gráficas L267-271** y **L278-282**, se representan respectivamente los datos de  $CO_2$  y  $N_2O$  acumulado, que ha sido desprendido desde este suelo en las diferentes condiciones de humedad en que ha sido incubado (27, 34, 42, 50 y 67%).



## Emisión acumulada de $\text{CO}_2$ desde el Suelo de Forcarei

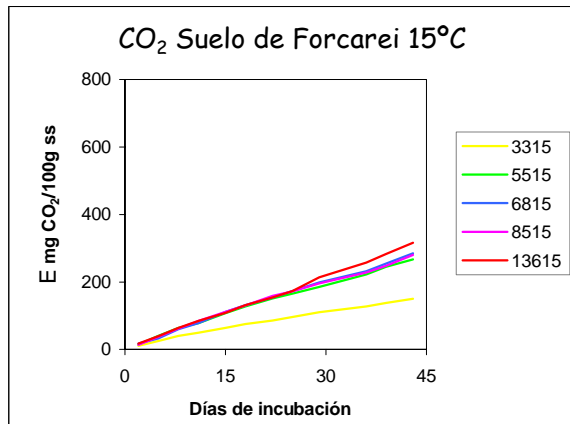


Gráfico L221

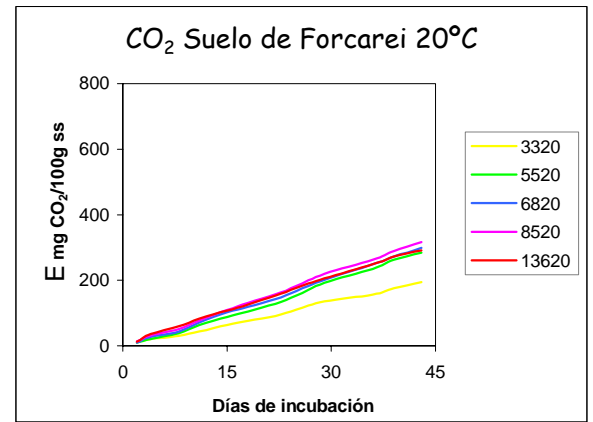


Gráfico L222

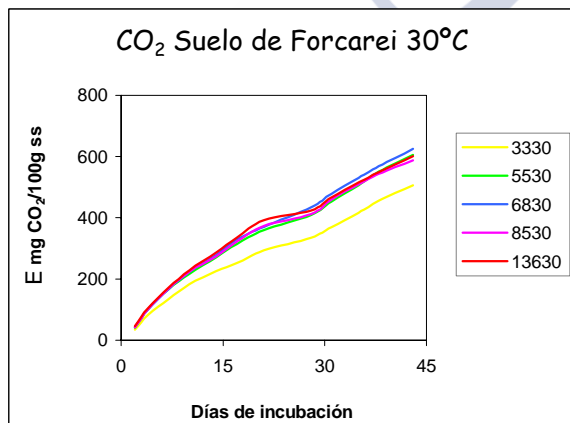


Gráfico L223

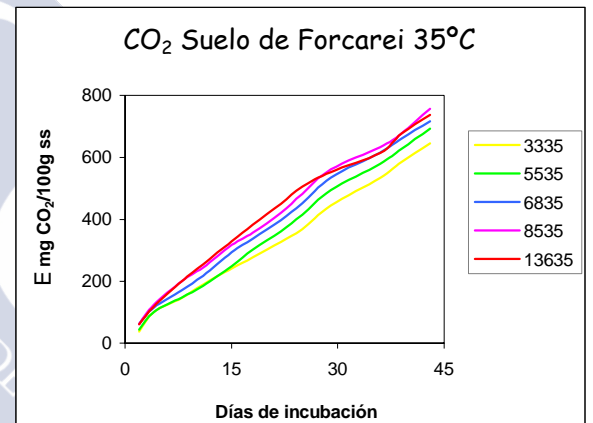


Gráfico L224

**Gráficas L221-L224:** Emisión acumulada de  $\text{CO}_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **FORCAREI**, sometido a **5 niveles de humedad diferentes** y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso:

**Gráfica L221:** temperatura 15°C.

**Gráfica L222:** temperatura 20°C.

**Gráfica L223:** temperatura 30°C.

**Gráfica L224:** temperatura 35°C.

## Emisión acumulada de CO<sub>2</sub> desde el Suelo de Forcarei

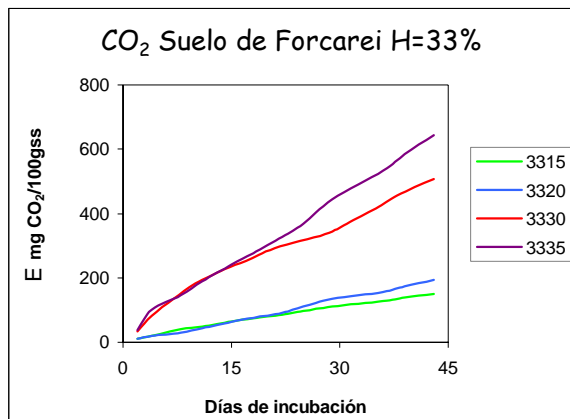


Gráfico L225

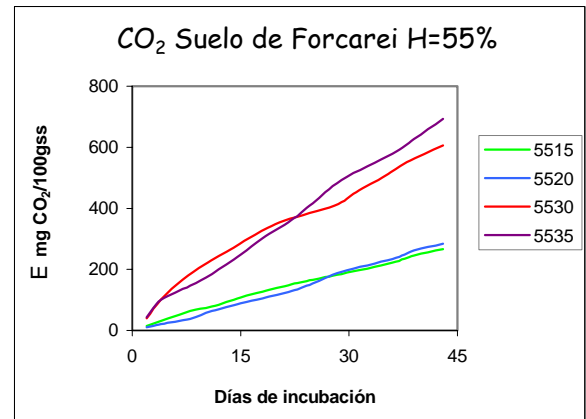


Gráfico L226

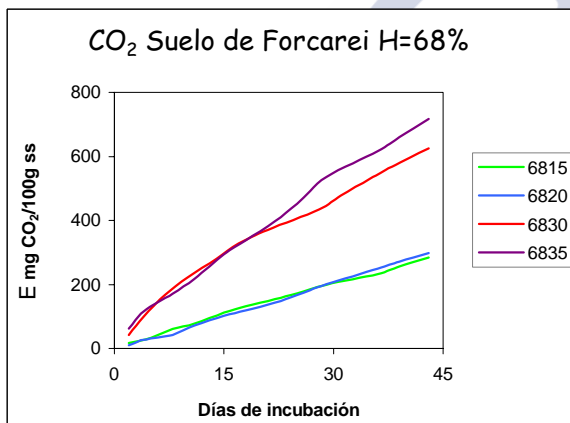


Gráfico L227

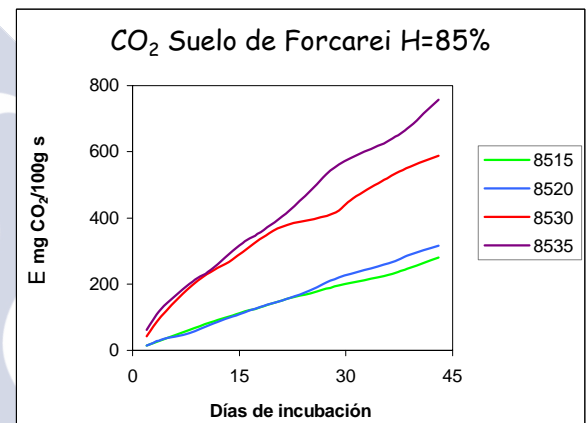


Gráfico L228

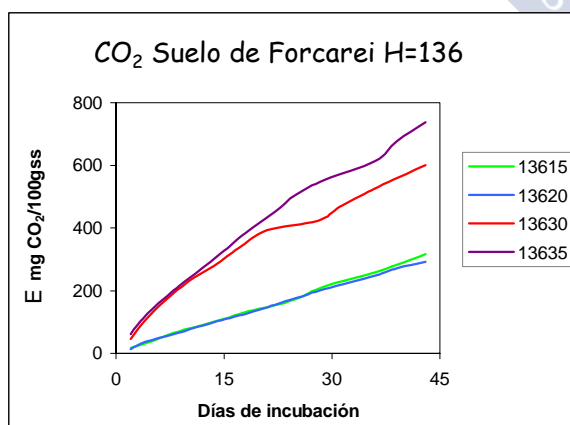


Gráfico L229

**Gráficas L225-L229:** Emisión acumulada de CO<sub>2</sub> en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **FORCAREI**, sometido a **4 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso:

**Gráfica L225:** humedad del 33%.

**Gráfica L226:** humedad del 55%.

**Gráfica L227:** humedad del 68%.

**Gráfica L228:** humedad del 85%.

**Gráfica L229:** humedad del 136%.

## Emisión acumulada de $N_2O$ desde el Suelo de Forcarei

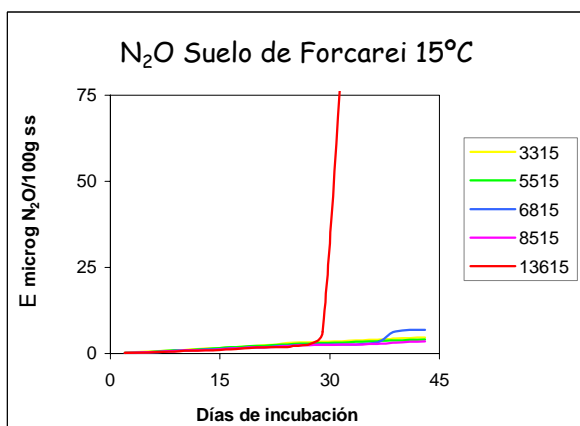


Gráfico L230

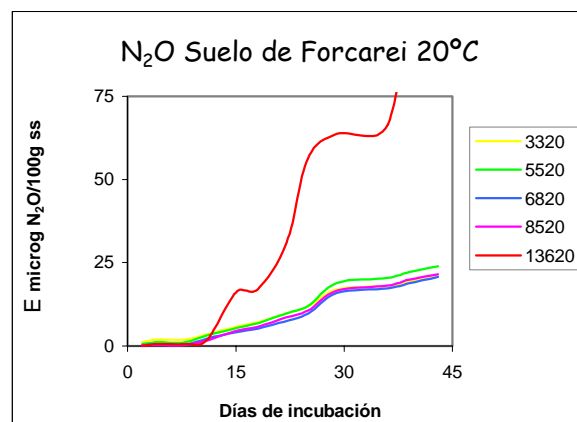


Gráfico L231

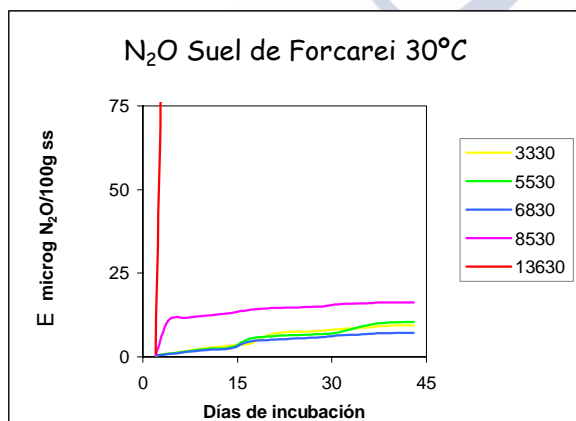


Gráfico L232

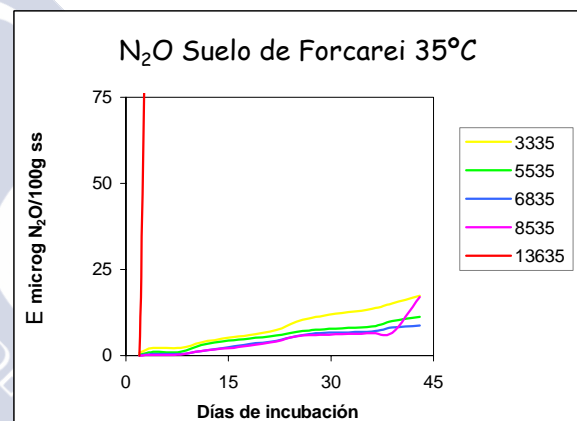


Gráfico L233

**Gráficas L230-L233:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **FORCAREI**, sometido a **5 niveles de humedad diferentes** y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso:

Gráfica L230: temperatura 15°C.

Gráfica L231: temperatura 20°C.

Gráfica L232: temperatura 30°C.

Gráfica L233: temperatura 35°C.

## Emisión acumulada de N<sub>2</sub>O desde el Suelo de Forcarei

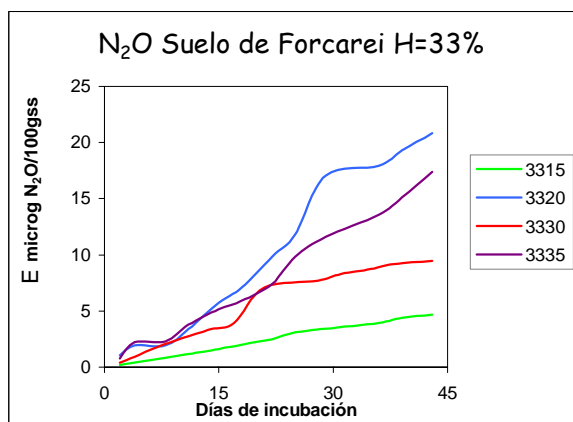


Gráfico L234

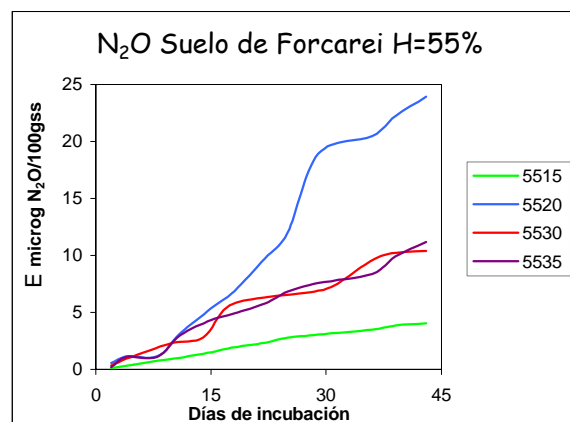


Gráfico L235

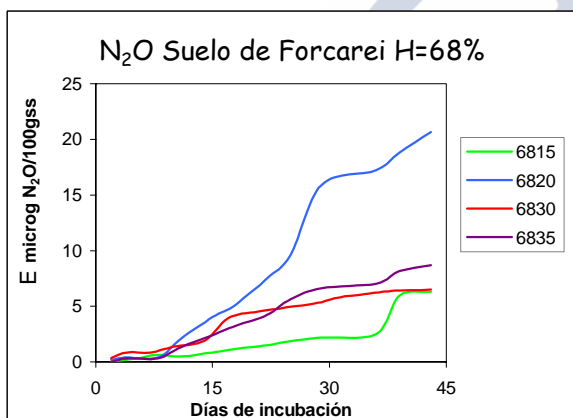


Gráfico L236

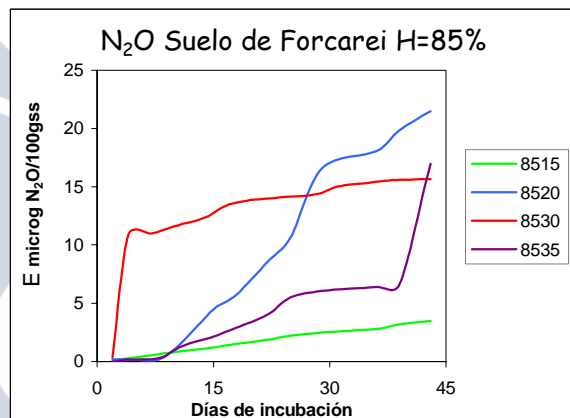


Gráfico L237

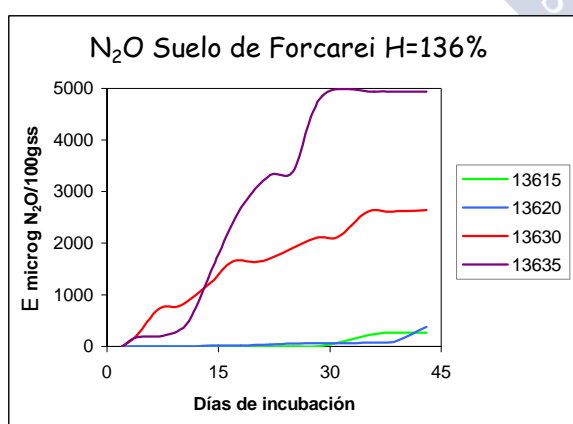


Gráfico L238

**Gráficas L234-L238:** Emisión acumulada de N<sub>2</sub>O en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **FORCAREI**, sometido a **4 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso:

Gráfica L234: humedad del 33%.

Gráfica L235: humedad del 55%.

Gráfica L236: humedad del 68%.

Gráfica L237: humedad del 85%.

Gráfica L238: humedad del 136%.

## Emisión acumulada de CO<sub>2</sub> desde el Suelo de Prado

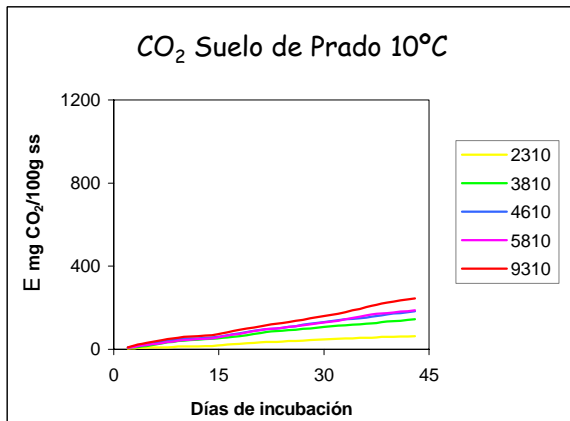


Gráfico L239

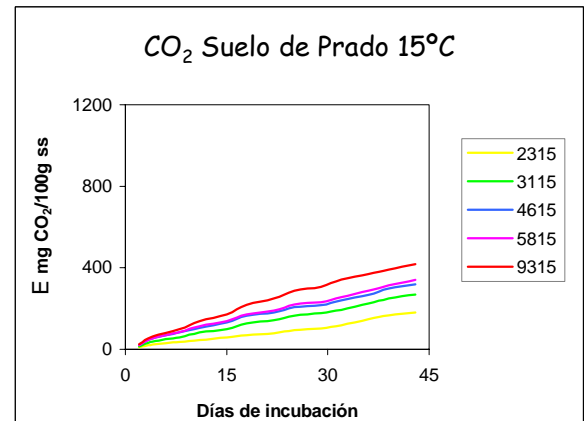


Gráfico L240

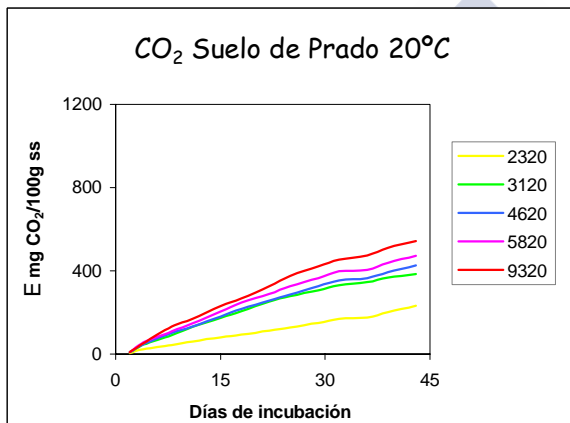


Gráfico L241

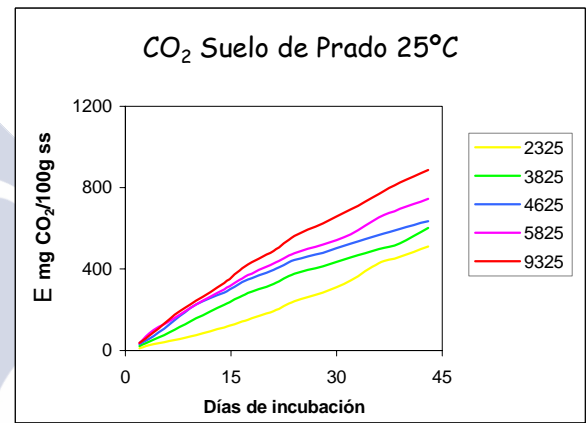


Gráfico L242

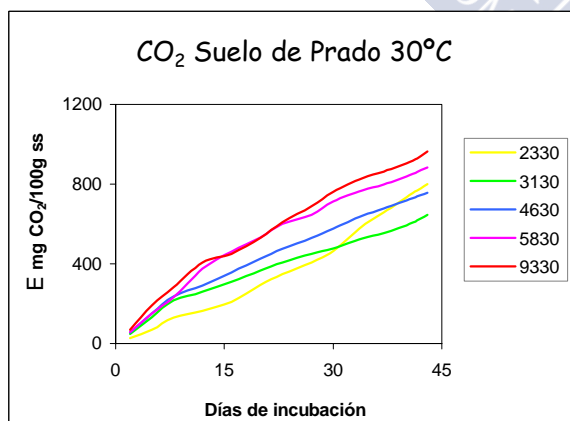


Gráfico L243

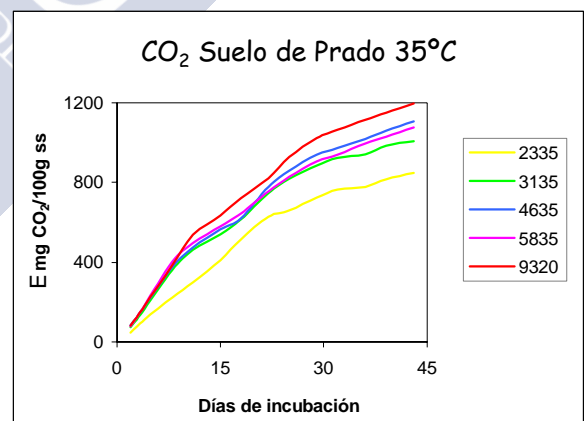


Gráfico L244

**Gráficas L239-L244:** Emisión acumulada de CO<sub>2</sub> en función del tiempo, producida a partir de un suelo de PRADO, sometido a 5 niveles de humedad diferentes y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso:

Gráfica L239: temperatura 10°C.

Gráfica L240: temperatura 15°C.

Gráfica L241: temperatura 20°C.

Gráfica L242: temperatura 25°C.

Gráfica L243: temperatura 30°C.

Gráfica L244: temperatura 35°C.

## Emisión acumulada de CO<sub>2</sub> desde el Suelo de Prado

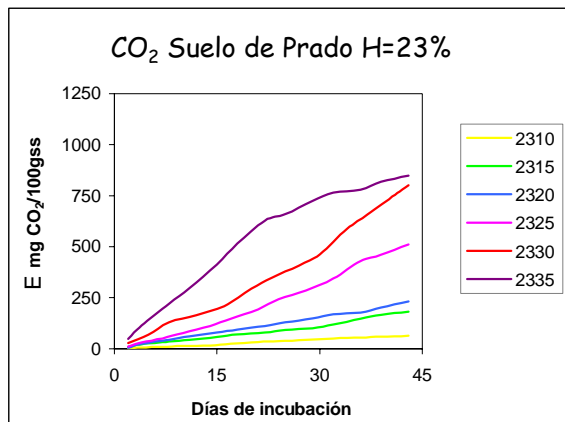


Gráfico L245

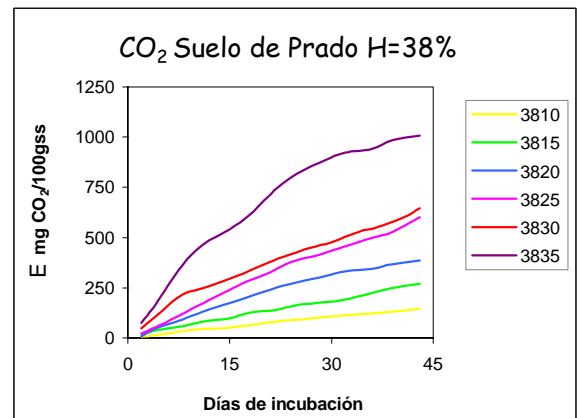


Gráfico L246

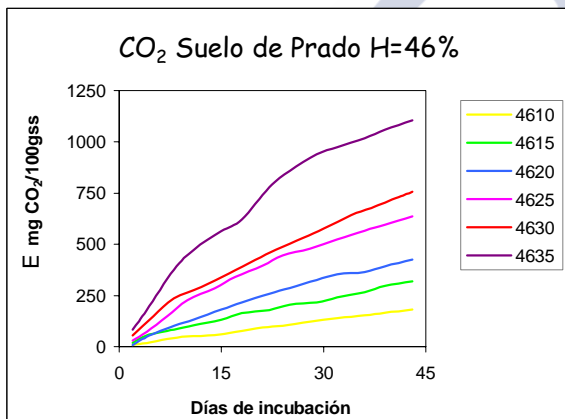


Gráfico L247

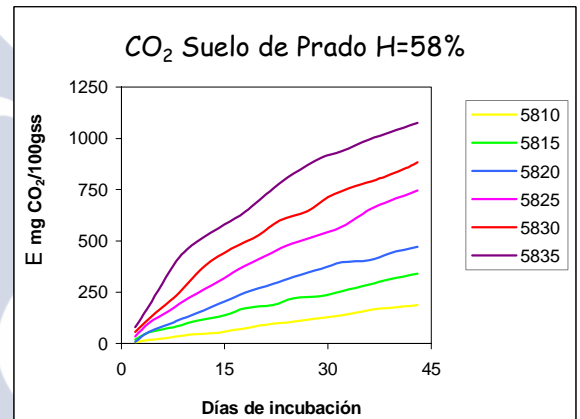


Gráfico L248

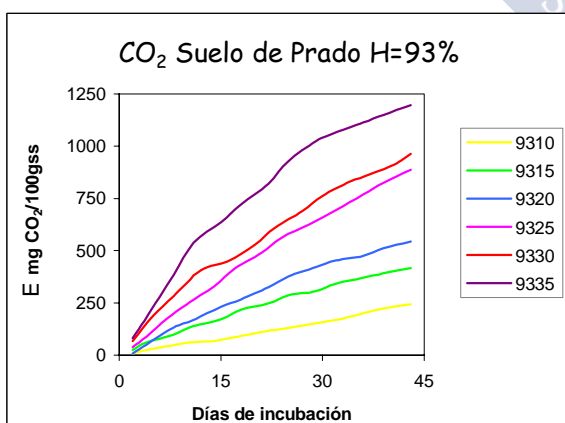


Gráfico L249

**Gráficas L245-L249:** Emisión acumulada de CO<sub>2</sub> en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PRADO**, sometido a **6 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso:

**Gráfica L245:** humedad del 23%.

**Gráfica L246:** humedad del 38%.

**Gráfica L247:** humedad del 46%.

**Gráfica L248:** humedad del 58%.

**Gráfica L249:** humedad del 93%.

## Emisión acumulada de $N_2O$ desde el Suelo de Prado

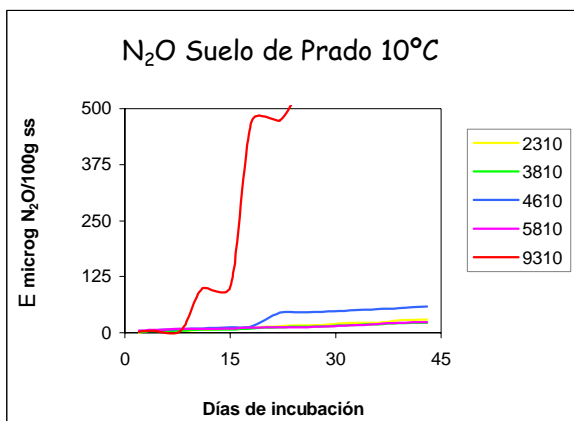


Gráfico L250

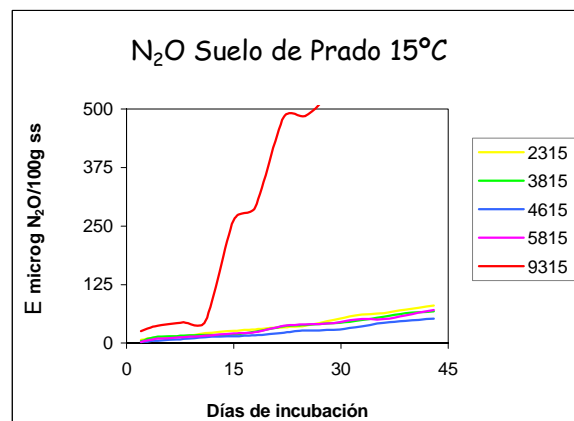


Gráfico L251

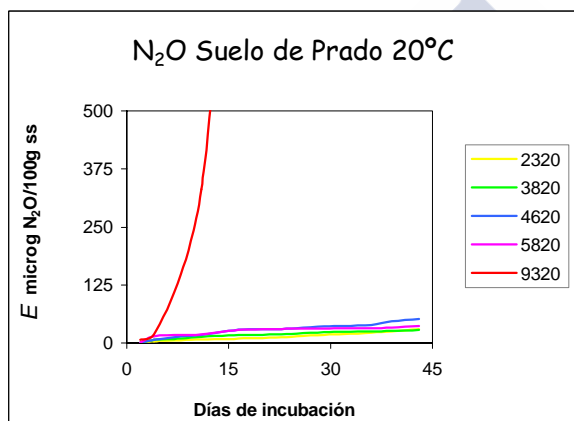


Gráfico L252

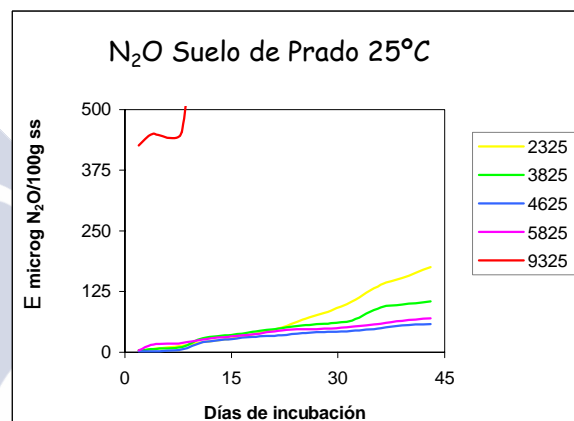


Gráfico L253

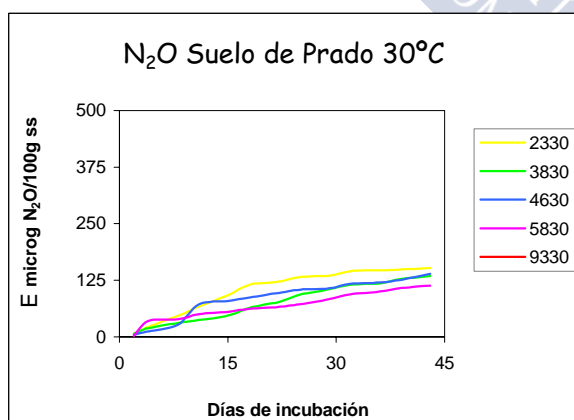


Gráfico L254

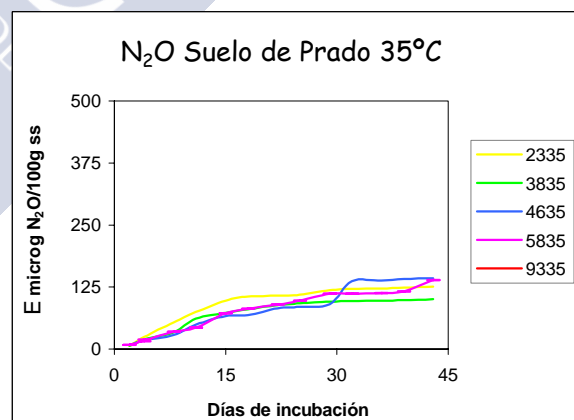


Gráfico L255

**Gráficas L250-L255:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de PRADO, sometido a 5 niveles de humedad diferentes y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso:

Gráfica L250: temperatura 10°C.

Gráfica L251: temperatura 15°C.

Gráfica L252: temperatura 20°C.

Gráfica L253: temperatura 25°C.

Gráfica L254: temperatura 30°C.

Gráfica L255: temperatura 35°C.

## Emisión acumulada de $N_2O$ desde el Suelo de Prado

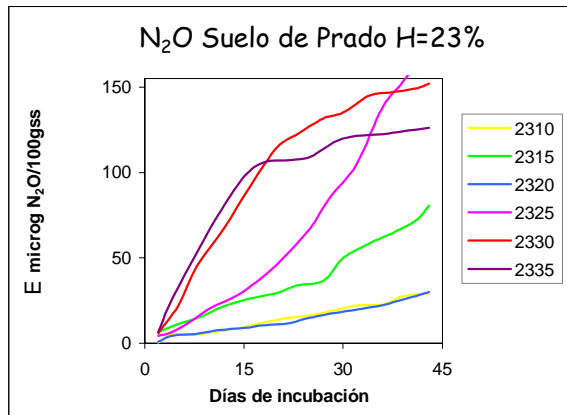


Gráfico L256

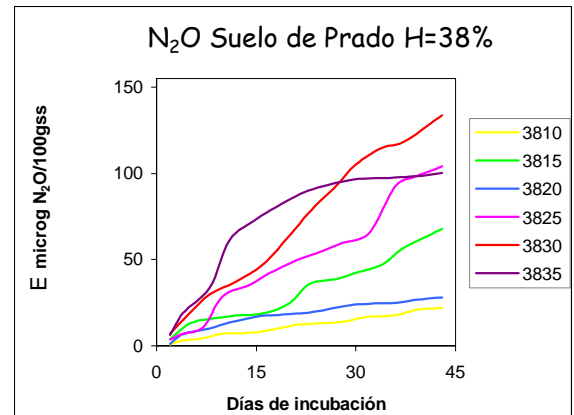


Gráfico L257

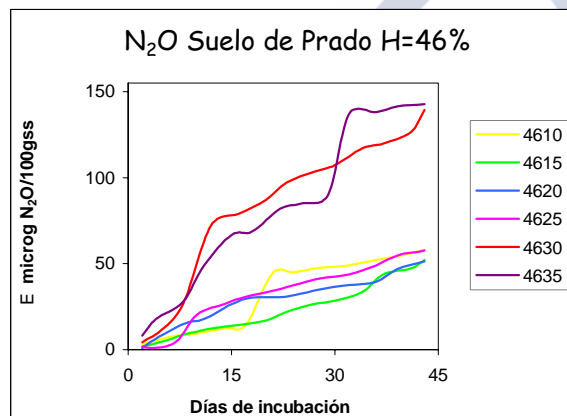


Gráfico L258

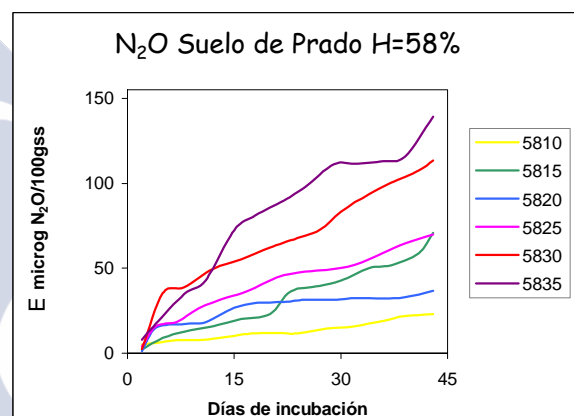


Gráfico L259

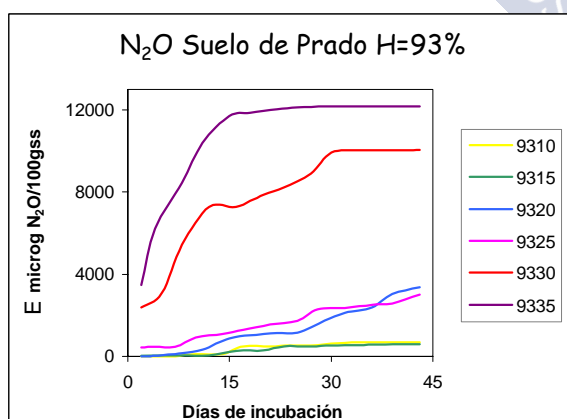


Gráfico L260

**Gráficas L256-L260:** Emisión acumulada de  $N_2O$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PRADO**, sometido a **6 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso:

**Gráfica L256:** humedad del 23%.

**Gráfica L257:** humedad del 38%.

**Gráfica L258:** humedad del 46%.

**Gráfica L259:** humedad del 58%.

**Gráfica L260:** humedad del 93%.



## Emisión acumulada de $\text{CO}_2$ desde el Suelo de Patata

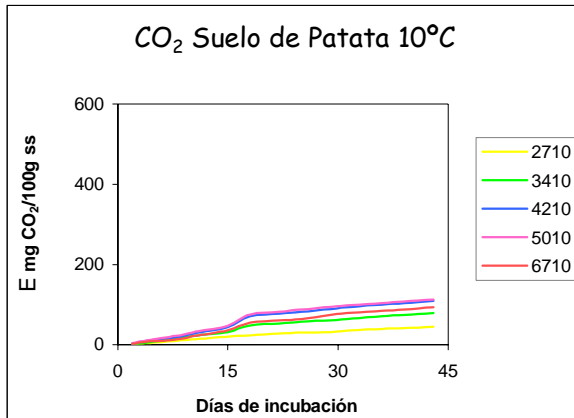


Gráfico L261

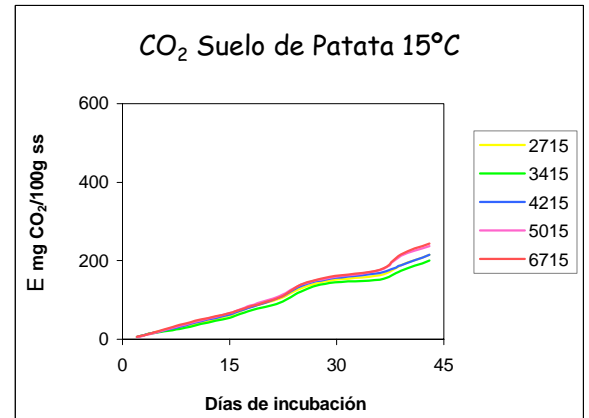


Gráfico L262

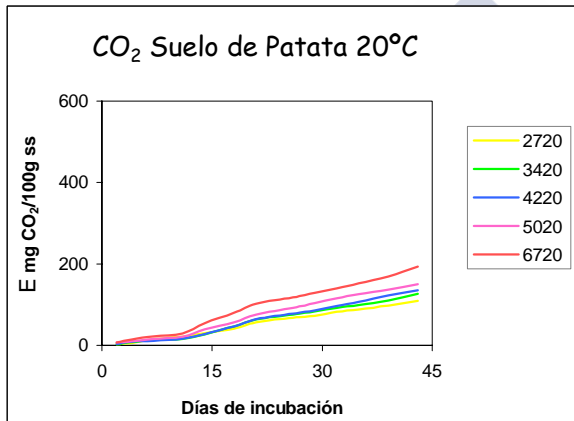


Gráfico L263

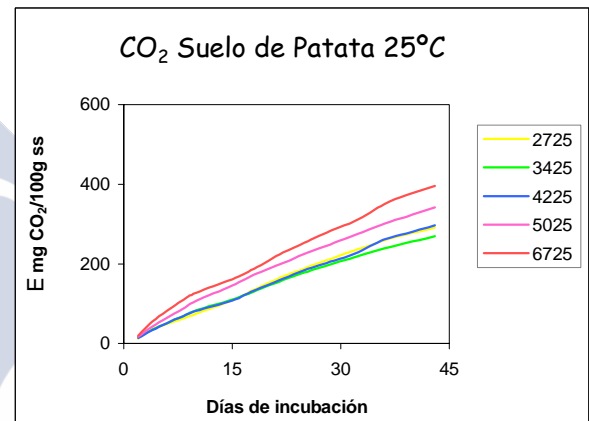


Gráfico L264

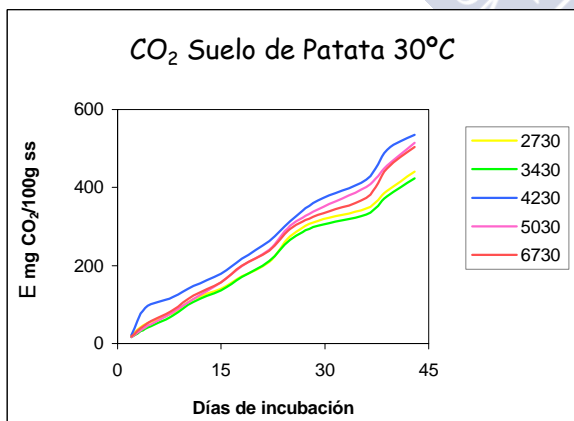


Gráfico L265

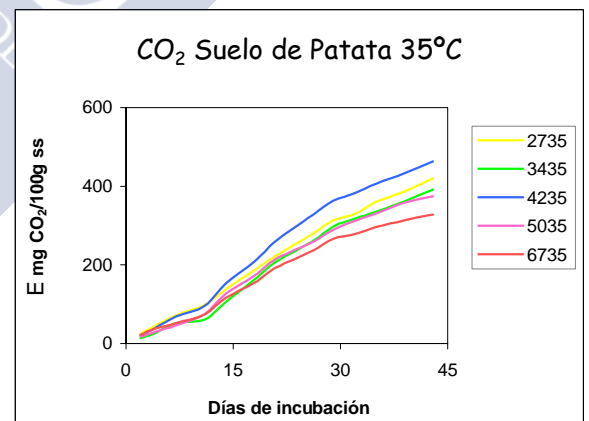


Gráfico L266

**Gráficas L261-L266:** Emisión acumulada de  $\text{CO}_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de PATATA, sometido a 5 niveles de humedad diferentes y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso:

Gráfica L261: temperatura 10°C.

Gráfica L262: temperatura 15°C.

Gráfica L263: temperatura 20°C.

Gráfica L264: temperatura 25°C.

Gráfica L265: temperatura 30°C.

Gráfica L266: temperatura 35°C.

## Emisión acumulada de $\text{CO}_2$ desde el Suelo de Patata

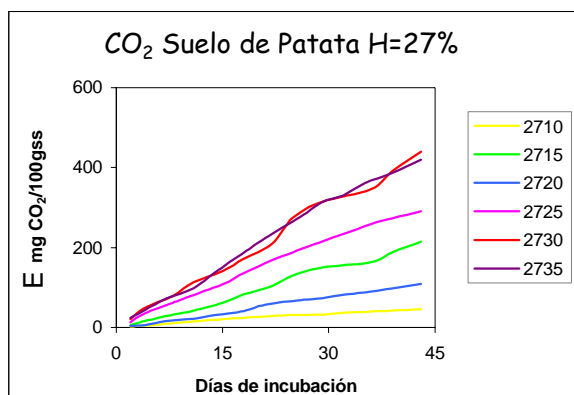


Gráfico L267

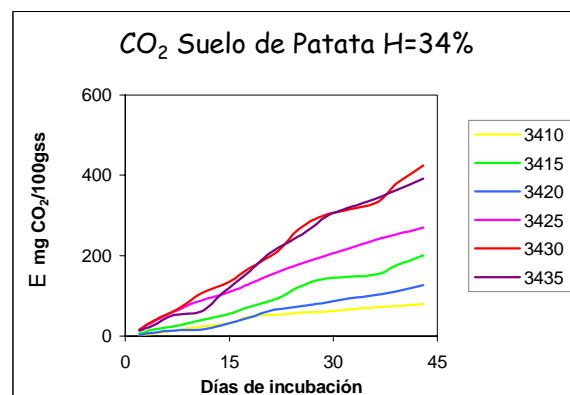


Gráfico L268

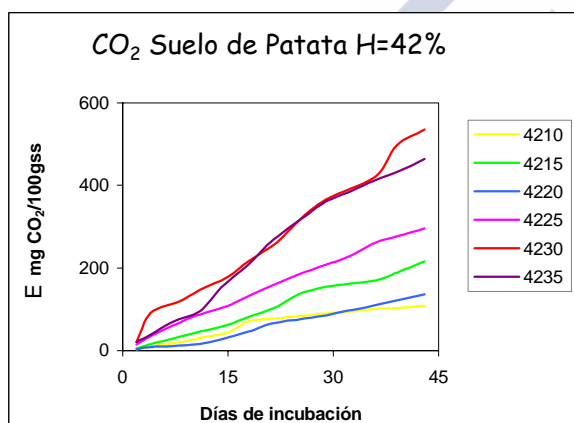


Gráfico L269

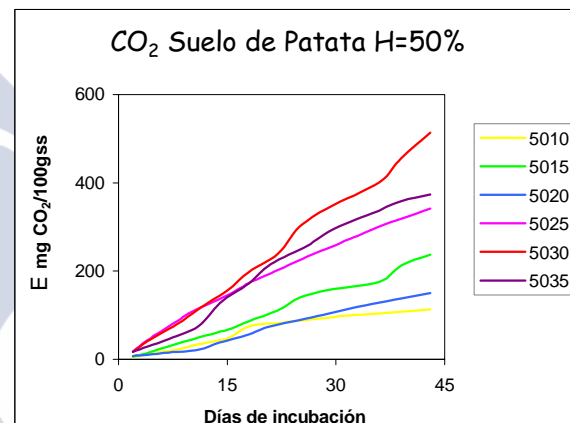


Gráfico L270

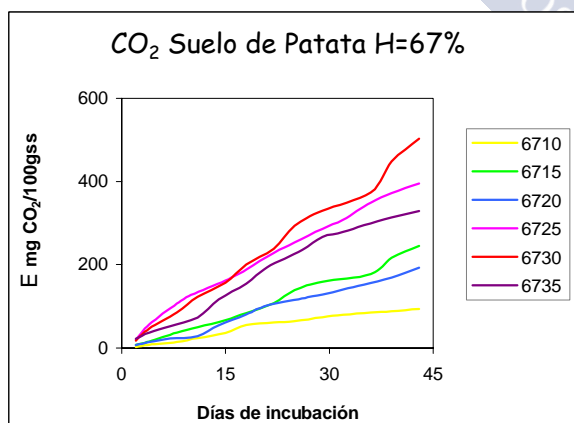


Gráfico L271

**Gráficas L267-L271:** Emisión acumulada de  $\text{CO}_2$  en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PATATA**, sometido a **6 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso:

**Gráfica L267:** humedad del 27%.

**Gráfica L268:** humedad del 34%.

**Gráfica L269:** humedad del 42%.

**Gráfica L270:** humedad del 50%.

**Gráfica L271:** humedad del 67%.

## Emisión acumulada de N<sub>2</sub>O desde el Suelo de Patata

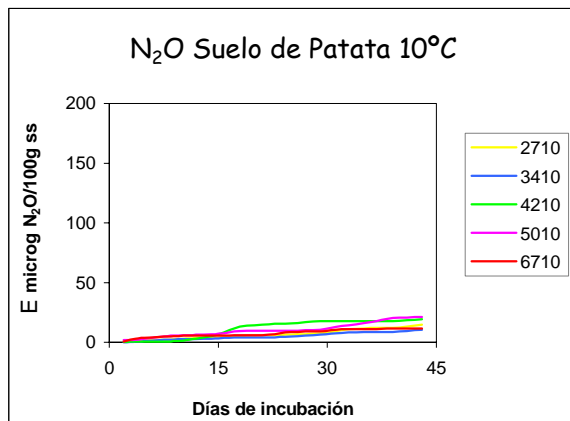


Gráfico L272

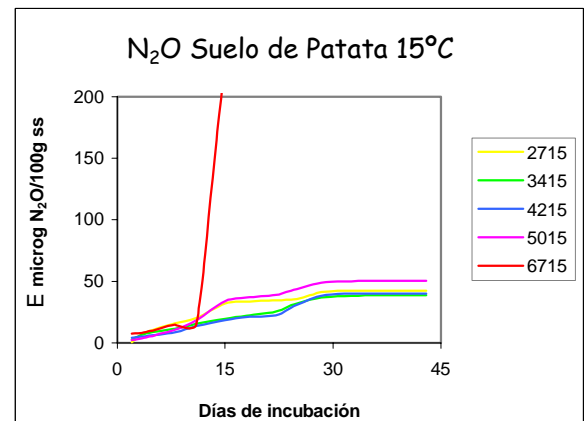


Gráfico L273

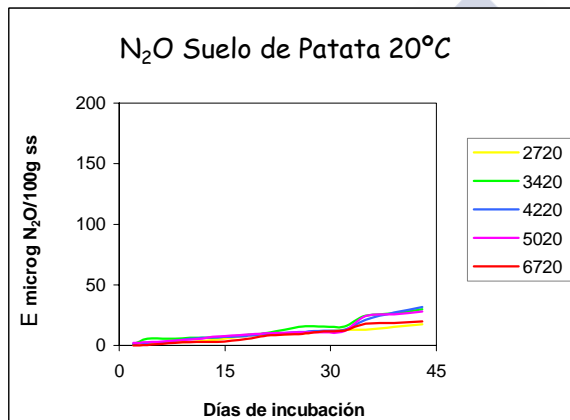


Gráfico L274

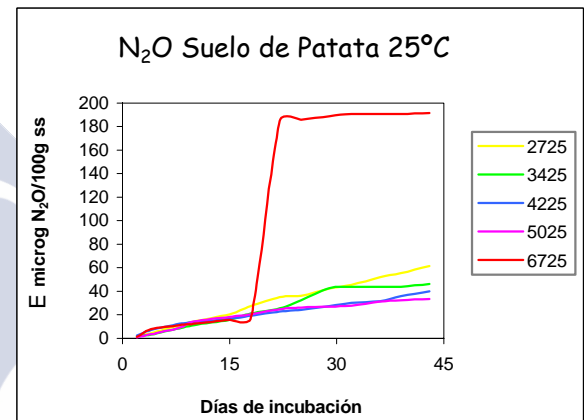


Gráfico L275

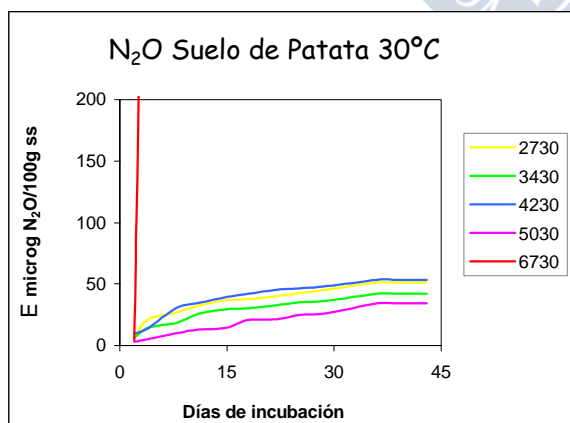


Gráfico L276

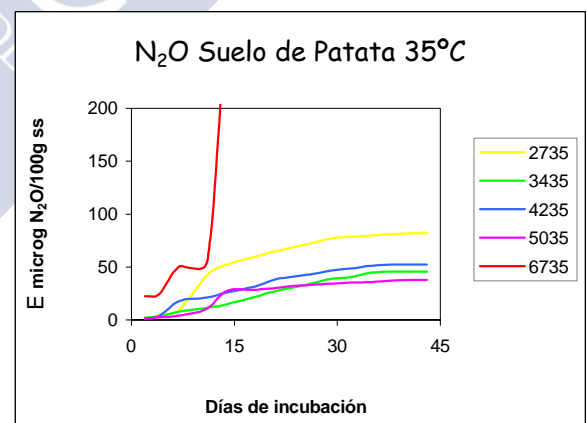


Gráfico L277

**Gráficas L272-L277:** Emisión acumulada de N<sub>2</sub>O en función del tiempo, producida a partir de un suelo de PATATA, sometido a 5 niveles de humedad diferentes y manteniendo constante una determinada temperatura de incubación para cada caso:

Gráfica L272: temperatura 10°C.

Gráfica L273: temperatura 15°C.

Gráfica L274: temperatura 20°C.

Gráfica L275: temperatura 25°C.

Gráfica L276: temperatura 30°C.

Gráfica L277: temperatura 35°C.

## Emisión acumulada de N<sub>2</sub>O desde el Suelo de Patata

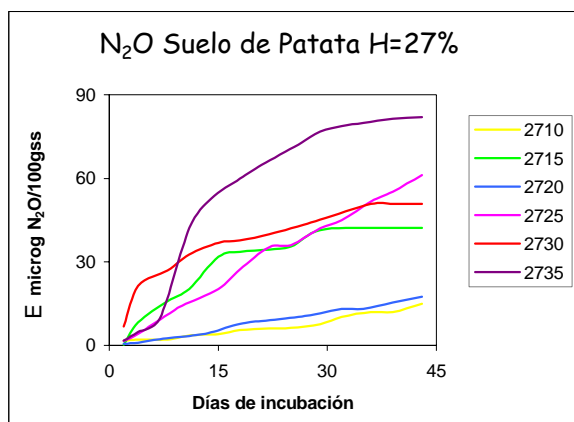


Gráfico L278

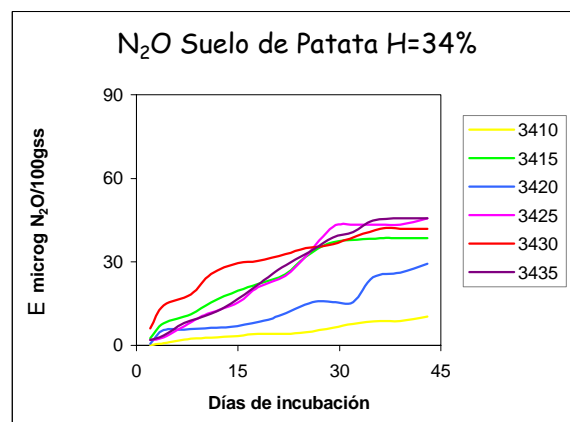


Gráfico L279

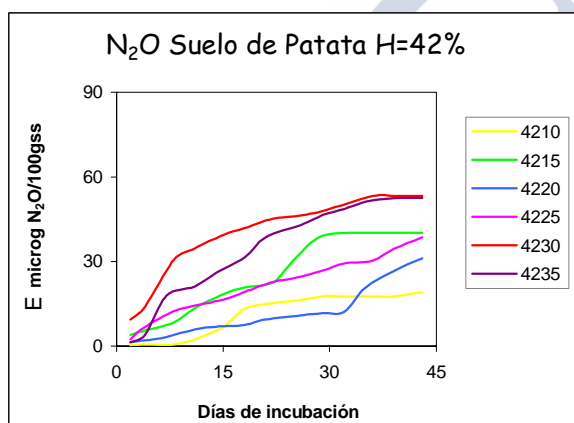


Gráfico L280

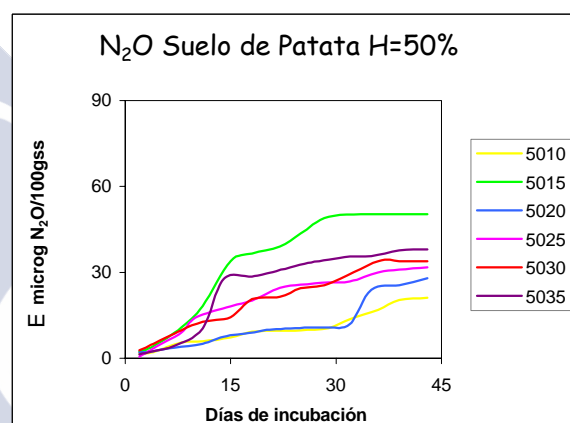


Gráfico L281

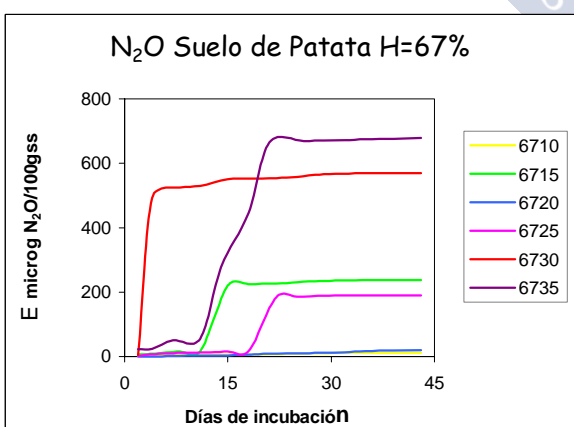


Gráfico L282

**Gráficas L278-L282:** Emisión acumulada de N<sub>2</sub>O en función del tiempo, producida a partir de un suelo de **PATATA**, sometido a **6 temperaturas** diferentes y manteniendo constante un determinado nivel de humedad para cada caso:

**Gráfica L278:** humedad del 27%.

**Gráfica L279:** humedad del 34%.

**Gráfica L280:** humedad del 42%.

**Gráfica L281:** humedad del 50%.

**Gráfica L282:** humedad del 67%.

### V.10.5.- Modelos de emisión de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O:

En un intento de construir modelos que simulen la emisión de los gases CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O, y de tratar de conocer la influencia que sobre ella tienen la variación de las condiciones de temperatura y del nivel de humedad, se han aplicado las técnicas estadísticas de *regresión múltiple*.

A partir de los datos obtenidos de emisión acumulada, y que se van a considerar como la *variable criterio*, se ha tratado de analizar la importancia y significación de cada una de las *variables predictorias*, de evaluar la fuerza global de asociación de éstas, y si es o no significativa esta relación.

Se ha elegido como modelo de regresión múltiple, un modelo polinómico de segundo grado y con el fin de que las ecuaciones que se obtengan sean lo más sencillas posibles, se ha partido de la fórmula más complicada, y a partir de ella se ha ido simplificando en la medida de lo posible, teniendo en cuenta los coeficientes de determinación obtenidos y el grado de significación de cada una de las variables predictorias.

#### V.10.5.1.- TRES VARIABLES INDEPENDIENTES: TIEMPO, TEMPERATURA, HUMEDAD.

En principio, se considerarán *variables independientes o predictorias*: el *tiempo*, la *temperatura* y la *humedad*, así como sus posibles combinaciones para obtener ecuaciones polinómicas de grado 2.

Mediante la utilización del programa estadístico SPSS se hace un primer intento para conocer el grado de asociación de las distintas variables en cada caso. Efectuando regresiones múltiples lineales, el programa ofrece la posibilidad de ir incorporando él las distintas variables independientes según el grado de asociación con la variable dependiente (elegir: “hacia delante”). De esta manera tendremos una idea acerca del orden de influencia de las distintas variables sobre la emisión de gases y cuál de ellas es la que más influye en cada caso. En las **tablas L2-4** se resumen los resultados obtenidos para el CO<sub>2</sub> emitido (acumulado) para cada uno de los suelos.

**Tabla L2: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de FORCAREI. Variable dependiente: CO<sub>2</sub> acumulado.**

**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.952 <sup>a</sup>	.906	.905	56.7569
2	.971 <sup>b</sup>	.944	.943	43.9933
3	.978 <sup>c</sup>	.956	.955	39.1123
4	.981 <sup>d</sup>	.962	.962	36.0864
5	.983 <sup>e</sup>	.966	.966	34.2203
6	.984 <sup>f</sup>	.968	.967	33.3007
7	.985 <sup>g</sup>	.970	.969	32.6057
8	.985 <sup>h</sup>	.970	.969	32.3267

a. Variables predictoras: (Constante), DT

b. Variables predictoras: (Constante), DT, T2

c. Variables predictoras: (Constante), DT, T2, HUMEDAD

d. Variables predictoras: (Constante), DT, T2, HUMEDAD, H2

e. Variables predictoras: (Constante), DT, T2, HUMEDAD, H2, D2

f. Variables predictoras: (Constante), DT, T2, HUMEDAD, H2, D2, TEMPER

g. Variables predictoras: (Constante), DT, T2, HUMEDAD, H2, D2, TEMPER, DH

h. Variables predictoras: (Constante), DT, T2, HUMEDAD, H2, D2, TEMPER, DH, DÍAS

**Tabla L3: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de PRADO. Variable dependiente: CO<sub>2</sub> acumulado.**

**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.921 <sup>a</sup>	.849	.848	113.3599
2	.967 <sup>b</sup>	.935	.935	74.4686
3	.975 <sup>c</sup>	.951	.950	64.9868
4	.979 <sup>d</sup>	.958	.958	59.9278
5	.981 <sup>e</sup>	.963	.963	56.2477
6	.985 <sup>f</sup>	.971	.971	49.8648
7	.987 <sup>g</sup>	.974	.973	47.5520
8	.988 <sup>h</sup>	.976	.976	45.3846
9	.989 <sup>i</sup>	.977	.977	44.5754

a. Variables predictoras: (Constante), DT

b. Variables predictoras: (Constante), DT, TH

c. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, DIAS2

d. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, DIAS2, DH

e. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, DIAS2, DH, T2

f. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, DIAS2, DH, T2, TEMPERAT

g. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, DIAS2, DH, T2, TEMPERAT, H2

h. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, DIAS2, DH, T2, TEMPERAT, H2, HUMEDAD

i. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, DIAS2, DH, T2, TEMPERAT, H2, HUMEDAD, DÍAS

**Tabla L4: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia adelante" para el suelo de PATATA. Variable dependiente: CO<sub>2</sub> acumulado.**

**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.935 <sup>a</sup>	.874	.874	44.6053
2	.938 <sup>b</sup>	.881	.880	43.5397
3	.939 <sup>c</sup>	.882	.881	43.2800
4	.941 <sup>d</sup>	.885	.883	42.9101
5	.941 <sup>e</sup>	.886	.884	42.6939

a. Variables predictoras: (Constante), DT

b. Variables predictoras: (Constante), DT, TH

c. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, D2

d. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, D2, DH

e. Variables predictoras: (Constante), DT, TH, D2, DH, DIAS

De la misma manera que en las anteriores, en las **tablas L5-7** se resumen los resultados de las regresiones múltiples obtenidas mediante el programa SPSS. Se considera, como variable dependiente: el N<sub>2</sub>O emitido (acumulado) por cada uno de los suelos y como variables independientes o predictoras: el tiempo (D: días), temperatura (T), humedad (H), así como sus posibles combinaciones para obtener ecuaciones polinómicas de grado 2 (D<sup>2</sup>, T<sup>2</sup>, H<sup>2</sup>, D\*T, D\*H y T\*H).

**Tabla L5: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia adelante" para el suelo de FORCAREI. Variable dependiente: N<sub>2</sub>O acumulado.**

**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.625 <sup>a</sup>	.391	.388	632.7197
2	.675 <sup>b</sup>	.456	.452	599.0380
3	.696 <sup>c</sup>	.485	.478	584.2678
4	.759 <sup>d</sup>	.576	.569	531.0873
5	.800 <sup>e</sup>	.639	.632	491.0383
6	.826 <sup>f</sup>	.683	.675	461.4292
7	.844 <sup>g</sup>	.712	.703	440.5931

a. Variables predictoras: (Constante), TH

b. Variables predictoras: (Constante), TH, DH

c. Variables predictoras: (Constante), TH, DH, HUMEDAD

d. Variables predictoras: (Constante), TH, DH, HUMEDAD, TEMPERAT

e. Variables predictoras: (Constante), TH, DH, HUMEDAD, TEMPERAT, H2

f. Variables predictoras: (Constante), TH, DH, HUMEDAD, TEMPERAT, H2, DÍAS

g. Variables predictoras: (Constante), TH, DH, HUMEDAD, TEMPERAT, H2, DÍAS, DT

**Tabla L6: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de PRADO. Variable dependiente: N<sub>2</sub>O acumulado.**

**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.720 <sup>a</sup>	.518	.517	1675.6445
2	.740 <sup>b</sup>	.547	.545	1625.7255
3	.797 <sup>c</sup>	.636	.633	1460.5545
4	.845 <sup>d</sup>	.715	.712	1294.2521
5	.861 <sup>e</sup>	.741	.738	1234.5379
6	.871 <sup>f</sup>	.758	.755	1193.7267
7	.877 <sup>g</sup>	.770	.765	1167.1161

a. Variables predictoras: (Constante), TH

b. Variables predictoras: (Constante), TH, TEMPERAT

c. Variables predictoras: (Constante), TH, TEMPERAT, HUMEDAD

d. Variables predictoras: (Constante), TH, TEMPERAT, HUMEDAD, HUM2

e. Variables predictoras: (Constante), TH, TEMPERAT, HUMEDAD, HUM2, DH

f. Variables predictoras: (Constante), TH, TEMPERAT, HUMEDAD, HUM2, DH, TEMP2

g. Variables predictoras: (Constante), TH, TEMPERAT, HUMEDAD, HUM2, DH, TEMP2, DIAS2

**Tabla L7: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante" para el suelo de PATATA. Variable dependiente: N<sub>2</sub>O acumulado.**

**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.578 <sup>a</sup>	.334	.332	106.3869
2	.636 <sup>b</sup>	.405	.402	100.7229
3	.651 <sup>c</sup>	.423	.419	99.2825
4	.689 <sup>d</sup>	.475	.470	94.8325
5	.753 <sup>e</sup>	.566	.561	86.3242
6	.763 <sup>f</sup>	.583	.576	84.7856
7	.769 <sup>g</sup>	.592	.584	83.9415
8	.773 <sup>h</sup>	.598	.590	83.4166
9	.777 <sup>i</sup>	.604	.595	82.9127

a. Variables predictoras: (Constante), HT

b. Variables predictoras: (Constante), HT, DH

c. Variables predictoras: (Constante), HT, DH, T

d. Variables predictoras: (Constante), HT, DH, T, H

e. Variables predictoras: (Constante), HT, DH, T, H, H2

f. Variables predictoras: (Constante), HT, DH, T, H, H2, D2

g. Variables predictoras: (Constante), HT, DH, T, H, H2, D2, DT

h. Variables predictoras: (Constante), HT, DH, T, H, H2, D2, DT, T2

i. Variables predictoras: (Constante), HT, DH, T, H, H2, D2, DT, T2, DÍAS



En las **tablas L8-12** que se muestran a continuación se pueden observar los resultados de las distintas regresiones. En todos los casos se ha demostrado que la relación global es significativa mediante un análisis de la varianza (ANOVA) y la prueba F de Snedecor. Se han separado dos fuentes de variación, una debida a la regresión (varianza intergrupos) y otra residual (varianza intragrupo o residual). En todos los casos el valor de la F calculada es significativo ( $p \leq 0,05$ ), por lo que se puede concluir que las diferencias entre las medias de los grupos (variabilidad debida a la regresión) prevalecen sobre las diferencias entre los sujetos de cada grupo.

En las **tablas L8 y L9** se suceden progresivamente las distintas posibilidades al ir disminuyendo el número de miembros de las distintas ecuaciones polinómicas. Se ha partido del modelo más complicado posible con estas tres variables independientes (Tiempo=D, Temperatura=T y Humedad=H), que encabeza ambas tablas y que consiste en un polinomio cuadrático con 9 miembros y una constante, es decir, en realidad se trata de una regresión lineal de 9 variables independientes y una dependiente: la emisión acumulada de gas. A partir de ahí, se va prescindiendo de aquellos miembros cuyos coeficientes no sean significativos o cuya eliminación no suponga una disminución muy exagerada del valor de  $r^2$ , y se va simplificando el modelo hasta decidirse por una solución de compromiso entre una ecuación lo más simplificada posible pero con un buen coeficiente de determinación. Esta ecuación será capaz de explicar la emisión acumulada de gas a lo largo de los días de una incubación realizada en unas determinadas condiciones de temperatura y humedad. En la **Tabla L8** se pueden visualizar los distintos modelos que se han considerado para la emisión acumulada de CO<sub>2</sub>, mientras que los que se han sido estudiados para el N<sub>2</sub>O se pueden observar en la **Tabla L9**. Se han separado, mediante una línea negra horizontal, los grupos de ecuaciones que mantienen el mismo número de variables y, de entre cada grupo aparecen sombreados en gris aquellos que consiguen un coeficiente de determinación ( $r^2$ ) más próximo a 1.

MODELOS CUADRÁTICOS DE EMISIÓN DE CO <sub>2</sub> 3 VARIABLES INDEPENDIENTES: Días, Humedad y Temperatura	Suelo Forcarei (n=240) $r^2$	Suelo Prado (n=330) $r^2$	Suelo Patata (n=300) $r^2$
CO <sub>2</sub> liberado = $z + aD^2 + bH^2 + cT^2 + dD + eH + fT + gDH + hDT + iTH$	0,971	0,977	0,888
CO <sub>2</sub> liberado = $z + bH^2 + cT^2 + dD + eH + fT + gDH + hDT + iTH$	0,968	0,973	0,988
CO <sub>2</sub> liberado = $z + aD^2 + cT^2 + dD + eH + fT + gDH + hDT + iTH$	0,964	0,972	0,887
CO <sub>2</sub> liberado = $z + aD^2 + bH^2 + dD + eH + fT + gDH + hDT + iTH$	0,968	0,966	0,888
CO <sub>2</sub> liberado = $z + aD^2 + bH^2 + cT^2 + eH + fT + gDH + hDT + iTH$	0,970	0,976	0,887

$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + f T + g DH + h DT + i TH$	0,966	0,975	0,887
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + g DH + h DT + i TH$	0,968	0,968	0,888
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + h DT + i TH$	0,968	0,968	0,887
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + i TH$	0,887	0,872	0,785
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT$	0,970	0,975	0,887
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT$	0,969	0,970	0,887
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,962	0,968	0,887
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + a D^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT$	0,964	0,970	0,886
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + f T + g DH + h DT + i TH$	0,965	0,974	0,886
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT$	0,962	0,966	0,886
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + b H^2 + c T^2 + d D + f T + g DH + h DT$	0,962	0,965	0,886
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + f T + g DH + h DT$	0,962	0,965	0,886
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + d D + e H + f T + g DH + h DT$	0,959	0,954	0,886
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + e H + g DH + h DT$	0,960	0,959	0,884
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + e H + f T + h DT$	0,960	0,956	0,884
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + e H + h DT + i TH$	0,958	0,950	0,885
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + g DH + h DT$	0,960	0,958	0,886
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + f T + h DT$	0,948	0,917	0,880
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + f T + g DH + h DT$	0,953	0,939	0,880
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + e H + h DT$	0,958	0,950	0,884
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + f T + h DT$	0,948	0,917	0,880
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + f T + h DT + i TH$	0,957	0,952	0,881
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + d D + e H + f T + h DT$	0,957	0,945	0,884
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + e H + h DT + i TH$	0,956	0,946	0,883
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + d D + g DH + h DT$	0,954	0,948	0,886
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + g DH + h DT$	0,952	0,936	0,880
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + d D + h DT$	0,946	0,910	0,880
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + f T + h DT + i TH$	0,954	0,940	0,881
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + e H + f T + h DT$	0,954	0,938	0,882
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + h DT + i TH$	0,955	0,943	0,880
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + d D + e H + h DT$	0,952	0,940	0,884
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + e H + h DT$	0,956	0,945	0,882
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + d D + h DT$	0,940	0,900	0,880
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + g DH + h DT$	0,906	0,852	0,874
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + h DT + i TH$	0,942	0,935	0,881
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + i TH$	0,944	0,906	0,878
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + e H + h DT$	0,918	0,906	0,879
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + h DT$	0,906	0,849	0,874
$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + d D + e H + f T$	0,874	0,840	0,781

Tabla L8: Modelos lineales polinómicos que explican la emisión de  $\text{CO}_2$  desde de tres suelos distintos y a partir de tres variables independientes: temperatura (T), humedad (H) y tiempo de incubación (D= días).

MODELOS CUADRÁTICOS DE EMISIÓN DE N<sub>2</sub>O

3 VARIABLES INDEPENDIENTES: Días, Humedad y Temperatura

**Suelo Forcarei**  
(n=240)  
 $r^2$

**Suelo Prado**  
(n=390)  
 $r^2$

**Suelo Patata**  
(n=380)  
 $r^2$

N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,717	0,775	0,604
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,716	0,774	0,600
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,654	0,772	0,513
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,713	0,758	0,598
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,688	0,772	0,598
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + f T + g DH + h DT + i TH$	0,528	0,602	0,462
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + g DH + h DT + i TH$	0,693	0,710	0,551
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + h DT + i TH$	0,617	0,748	0,571
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + i TH$	0,688	0,770	0,589
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT$	0,511	0,509	0,467
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + d D + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,712	0,757	0,594
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + g DH + i TH$	0,687	0,769	0,585
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + c T^2 + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,648	0,759	0,573
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + c T^2 + d D + e H + f T + h DT + i TH$	0,617	0,747	0,566
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + d D + e H + f T + g DH + i TH$	0,683	0,752	0,579
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + c T^2 + e H + f T + g DH + i TH$	0,644	0,758	0,572
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + e H + f T + g DH + h DT + i TH$	0,643	0,742	0,567
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + d D + e H + f T + h DT + i TH$	0,613	0,730	0,561
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + c T^2 + d D + e H + h DT + i TH$	0,593	0,682	0,519
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + e H + f T + h DT + i TH$	0,610	0,731	0,565
N <sub>2</sub> O liberado = $z + a D^2 + b H^2 + e H + f T + g DH + i TH$	0,676	0,752	0,583
N <sub>2</sub> O liberado = $z + d D + e H + f T + g DH + i TH$	0,620	0,673	0,488
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + e H + f T + g DH + i TH$	0,639	0,741	0,566
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + d D + e H + g DH + i TH$	0,591	0,635	0,411
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + d D + e H + f T + i TH$	0,583	0,725	0,546
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + e H + f T + h DT + i TH$	0,601	0,729	0,559
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + d D + e H + i TH$	0,492	0,608	0,476
N <sub>2</sub> O liberado = $z + d D + e H + f T + i TH$	0,520	0,646	0,455
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + d D + f T + i TH$	0,448	0,576	0,425
N <sub>2</sub> O liberado = $z + d D + e H + g DH + i TH$	0,528	0,556	0,417
N <sub>2</sub> O liberado = $z + d D + f T + g DH + i TH$	0,460	0,558	0,423
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + e H + f T + i TH$	0,549	0,715	0,507
N <sub>2</sub> O liberado = $z + e H + f T + g DH + i TH$	0,576	0,662	0,475
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + f T + g DH + i TH$	0,481	0,579	0,435
N <sub>2</sub> O liberado = $z + b H^2 + e H + g DH + i TH$	0,548	0,623	0,496

Tabla L9: Modelos lineales polinómicos que explican la emisión de N<sub>2</sub>O desde de tres suelos distintos y a partir de tres variables independientes: temperatura (T), humedad (H) y tiempo de incubación (D= días).

## V.10.5.2.- DOS VARIABLES INDEPENDIENTES: TEMPERATURA, HUMEDAD.

Se prescinde del tiempo como variable independiente, considerando como tales solamente la temperatura y humedad. Se construyen todos los modelos posibles, y se aplican para todos los datos que correspondan a un mismo momento de incubación, es decir, se calculan los coeficientes de determinación para cada tiempo, de un mismo suelo. En las tablas siguientes se pueden observar las medias de los  $r^2$  obtenidos para todos los tiempos de cada tipo de suelo estudiado, así como el valor máximo y mínimo de cada caso y la RSD de estos valores. La **tabla 10** corresponde a los resultados del  $N_2O$ , mientras los del  $CO_2$  se encuentran en la **tabla 11**.

MODELOS CUADRÁTICOS DE EMISIÓN DE $N_2O$ 2 VARIABLES INDEPENDIENTES: Humedad y Temperatura	Suelo de Forcarei (n=240:12) $r^2$			Suelo de Prado (n=390:13) $r^2$			Suelo de Patata (n=380:12) $r^2$		
	media	rango	RSD	media	rango	RSD	media	rango	RSD
$N_2O$ liberado = $z + a TH + b H^2 + c T^2 + d H + e T$	0,786	0,531 0,867	14,78	0,797	0,749 0,848	3,77	0,495	0,259 0,730	42,5
$N_2O$ liberado = $z + b H^2 + c T^2 + d H + e T$	0,511	0,404 0,574	9,32	0,502	0,428 0,581	9,87	0,367	0,181 0,544	43,1
$N_2O$ liberado = $z + a TH + b H^2 + d H + e T$	0,758	0,308 0,865	21,65	0,777	0,716 0,839	4,87	0,486	0,256 0,723	42,8
$N_2O$ liberado = $z + a TH + c T^2 + d H + e T$	0,687	0,346 0,771	19,17	0,844	0,685 0,740	1,13	0,411	0,213 0,604	41,2
$N_2O$ liberado = $z + a TH + b H^2 + c T^2 + e T$	0,591	0,330 0,653	16,94	0,635	0,596 0,677	3,89	0,383	0,195 0,563	41,4
$N_2O$ liberado = $z + a TH + b H^2 + c T^2 + d H$	0,748	0,320 0,851	20,38	0,727	0,655 0,804	6,34	0,460	0,256 0,676	40,9
$N_2O$ liberado = $z + a TH + b H^2 + c T^2$	0,557	0,073 0,647	28,51	0,591	0,532 0,654	6,39	0,362	0,195 0,529	40,0
$N_2O$ liberado = $z + a TH + d H + e T$	0,659	0,122 0,766	27,89	0,692	0,652 0,732	3,46	0,402	0,211 0,593	41,4
$N_2O$ liberado = $z + a TH + c T^2 + e T$	0,570	0,321 0,648	16,43	0,612	0,555 0,669	5,93	0,377	0,191 0,556	41,9
$N_2O$ liberado = $z + a TH + b H^2 + d H$	0,636	0,308 0,728	19,11	0,646	0,573 0,723	7,30	0,422	0,213 0,626	42,5
$N_2O$ liberado = $z + b H^2 + d H + e T$	0,483	0,304 0,566	15,43	0,447	0,396 0,573	23,1	0,357	0,396 0,573	43,4
$N_2O$ liberado = $z + c T^2 + d H + e T$	0,412	0,330 0,467	10,39	0,417	0,365 0,474	8,48	0,283	0,136 0,414	41,6
$N_2O$ liberado = $z + H^2 + c T^2 + e T$	0,457	0,294 0,530	14,32	0,467	0,402 0,536	9,34	0,313	0,152 0,461	42,2
$N_2O$ liberado = $z + b H^2 + c T^2 + d H$	0,484	0,296 0,570	16,16	0,493	0,413 0,579	10,9	0,362	0,175 0,541	44,0
$N_2O$ liberado = $z + a TH + b H^2 + e T$	0,564	0,107 0,652	27,18	0,614	0,563 0,668	5,30	0,373	0,193 0,552	41,6
$N_2O$ liberado = $z + a TH + c T^2 + d H$	0,649	0,135 0,753	26,61	0,643	0,592 0,697	5,00	0,376	0,210 0,546	38,9

Tabla L10: Modelos lineales polinómicos que explican la emisión de  $N_2O$  desde de tres suelos distintos y a partir de dos variables independientes: temperatura (T) y humedad (H).

MODELOS CUADRÁTICOS DE EMISIÓN DE CO <sub>2</sub> 2 VARIABLES INDEPENDIENTES: Humedad y Temperatura	Suelo de Forcarei (n=240:12) r <sup>2</sup>			Suelo de Prado (n=330:11) r <sup>2</sup>			Suelo de Patata (n=380:10) r <sup>2</sup>		
	media	Rango	RSD	media	rango	RSD	media	rango	RSD
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + b H <sup>2</sup> + c T <sup>2</sup> + d H + e T	0,930	0,844 0,980	4,60	0,969	0,936 0,980	1,29	0,735	0,518 0,819	13,27
CO <sub>2</sub> liberado = z + b H <sup>2</sup> + c T <sup>2</sup> + d H + e T	0,925	0,838 0,979	4,83	0,961	0,922 0,975	1,64	0,733	0,518 0,816	13,21
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + b H <sup>2</sup> + d H + e T	0,918	0,843 0,959	4,12	0,929	0,829 0,969	4,22	0,730	0,501 0,816	14,23
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + c T <sup>2</sup> + d H + e T	0,914	0,836 0,957	4,27	0,953	0,915 0,973	2,11	0,732	0,518 0,814	13,13
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + b H <sup>2</sup> + c T <sup>2</sup> + e T	0,916	0,839 0,958	4,05	0,955	0,923 0,970	1,72	0,729	0,517 0,813	13,09
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + b H <sup>2</sup> + c T <sup>2</sup> + d H	0,927	0,842 0,976	4,72	0,959	0,890 0,979	2,60	0,709	0,469 0,807	15,81
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + b H <sup>2</sup> + c T <sup>2</sup>	0,913	0,838 0,952	4,02	0,942	0,868 0,970	3,36	0,705	0,469 0,802	15,64
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + d H + e T	0,903	0,835 0,940	3,75	0,913	0,808 0,966	5,14	0,728	0,500 0,811	14,14
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + c T <sup>2</sup> + e T	0,912	0,836 0,955	4,15	0,952	0,915 0,971	2,01	0,723	0,516 0,809	12,90
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + b H <sup>2</sup> + d H	0,794	0,749 0,835	3,02	0,837	0,768 0,865	2,92	0,642	0,450 0,727	13,84
CO <sub>2</sub> liberado = z + b H <sup>2</sup> + d H + e T	0,914	0,838 0,959	4,41	0,921	0,815 0,967	4,68	0,728	0,501 0,813	14,48
CO <sub>2</sub> liberado = z + c T <sup>2</sup> + d H + e T	0,910	0,830 0,956	4,48	0,945	0,901 0,970	2,57	0,728	0,501 0,814	14,25
CO <sub>2</sub> liberado = z + H <sup>2</sup> + c T <sup>2</sup> + e T	0,901	0,824 0,946	4,49	0,931	0,886 0,962	2,99	0,710	0,517 0,812	14,76
CO <sub>2</sub> liberado = z + b H <sup>2</sup> + c T <sup>2</sup> + d H	0,922	0,835 0,975	5,02	0,954	0,888 0,975	2,58	0,708	0,459 0,809	16,38
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + b H <sup>2</sup> + e T	0,905	0,838 0,936	3,50	0,915	0,816 0,963	4,69	0,729	0,500 0,812	13,18
CO <sub>2</sub> liberado = z + a TH + c T <sup>2</sup> + d H	0,911	0,834 0,954	4,36	0,943	0,869 0,973	3,44	0,706	0,468 0,802	15,71
CO <sub>2</sub> liberado = z + b H <sup>2</sup> + c T <sup>2</sup>	0,898	0,820 0,944	4,69	0,924	0,853 0,959	3,79	0,701	0,458 0,801	16,02
CO <sub>2</sub> liberado = z + c T <sup>2</sup> + d H	0,907	0,827 0,953	4,67	0,938	0,867 0,969	3,44	0,704	0,459 0,802	16,18
CO <sub>2</sub> liberado = z + b H <sup>2</sup> + e T	0,890	0,823 0,928	4,06	0,891	0,780 0,956	6,07	0,719	0,450 0,811	15,73
CO <sub>2</sub> liberado = z + c T <sup>2</sup>	0,875	0,794 0,929	5,37	0,855	0,809 0,887	3,43	0,692	0,452 0,791	16,31

Tabla L11: Modelos lineales polinómicos que explican la emisión de CO<sub>2</sub> desde de tres suelos distintos y a partir de dos variables independientes: temperatura (T) y humedad (H).

En las **gráficas L283-L294** se han representado los modelos polinómicos que en las dos tablas anteriores aparecían en **morado**. Han sido elegidos tras adoptar una aptitud de compromiso entre la ecuación más sencilla posible, y el coeficiente de determinación más próximo a 1.

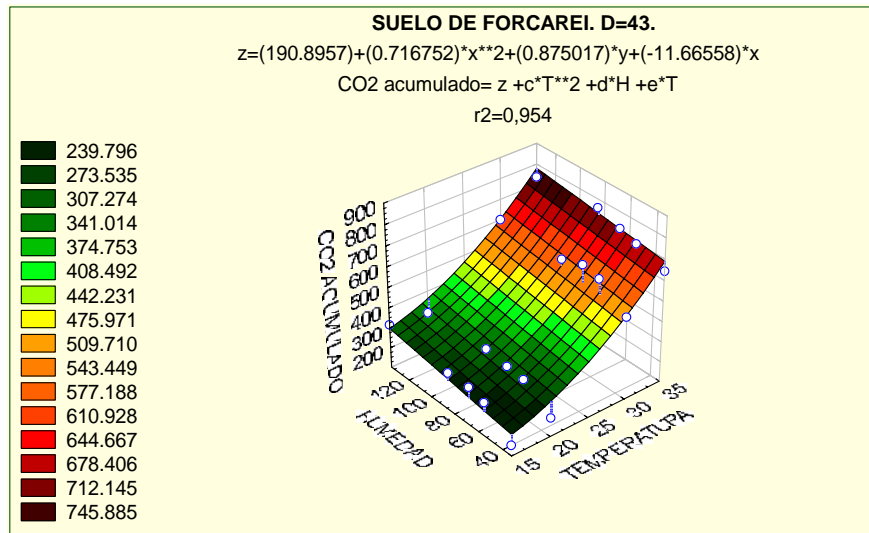


Gráfico L283: Suelo de FORCAREI. Regresión:  $\text{CO}_2$  acumulado =  $z + bT^2 + dH + eT$

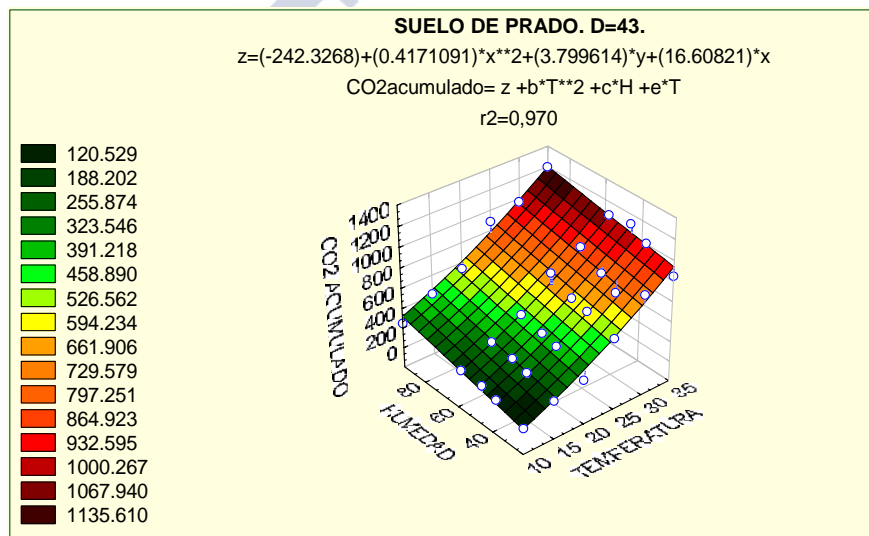


Gráfico L284: Suelo de PRADO. Regresión:  $\text{CO}_2$  acumulado =  $z + bT^2 + dH + eT$

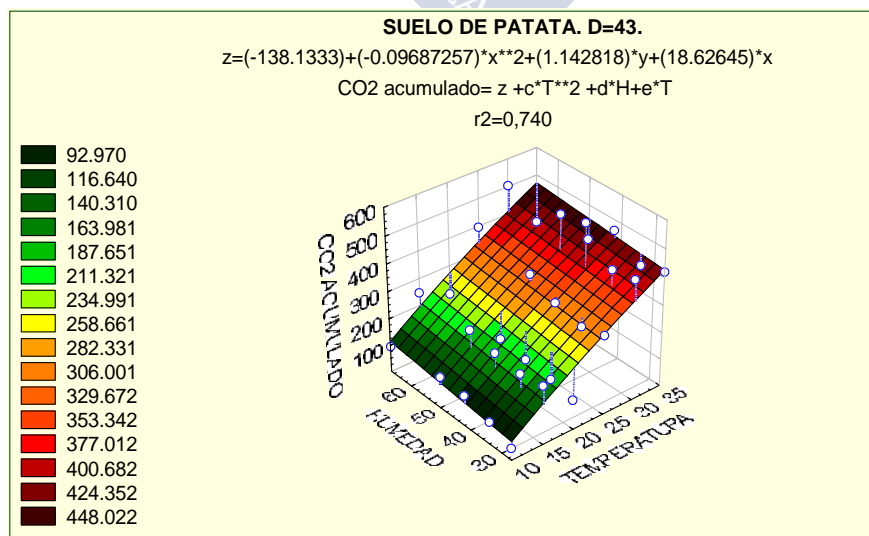


Gráfico L285: Suelo de PATATA. Regresión:  $\text{CO}_2$  acumulado =  $z + bT^2 + dH + eT$



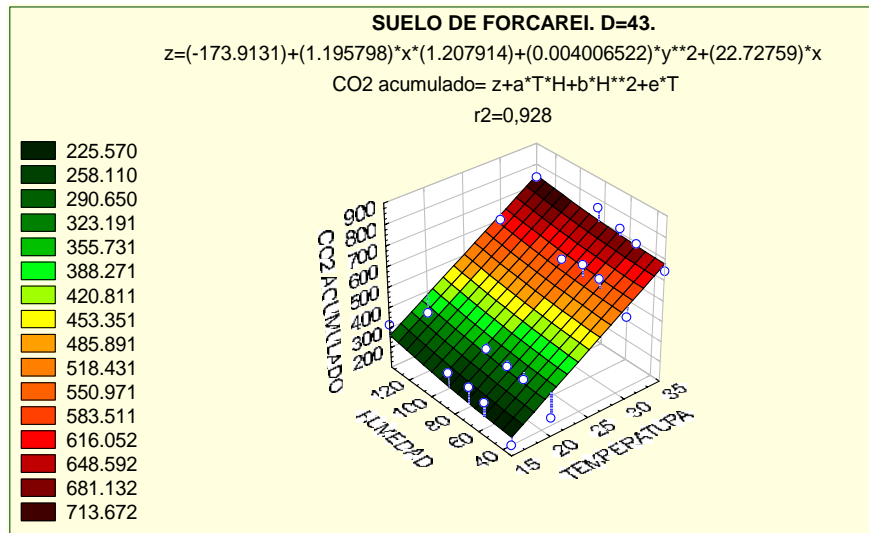


Gráfico L286: Suelo de FORCAREI. Regresión:  $CO_2 \text{ acumulado} = z + aTH + bH^2 + eT$

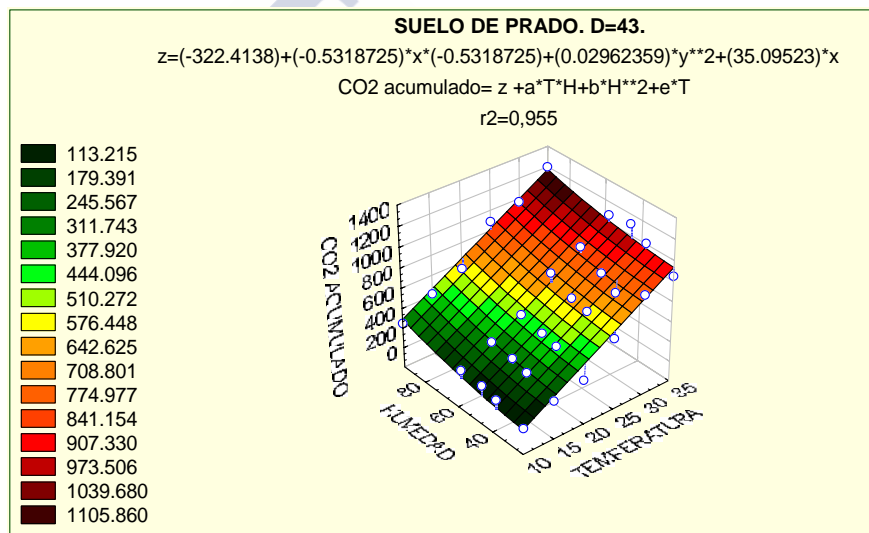


Gráfico L287: Suelo de PRADO. Regresión:  $CO_2 \text{ acumulado} = z + aTH + bH^2 + eT$

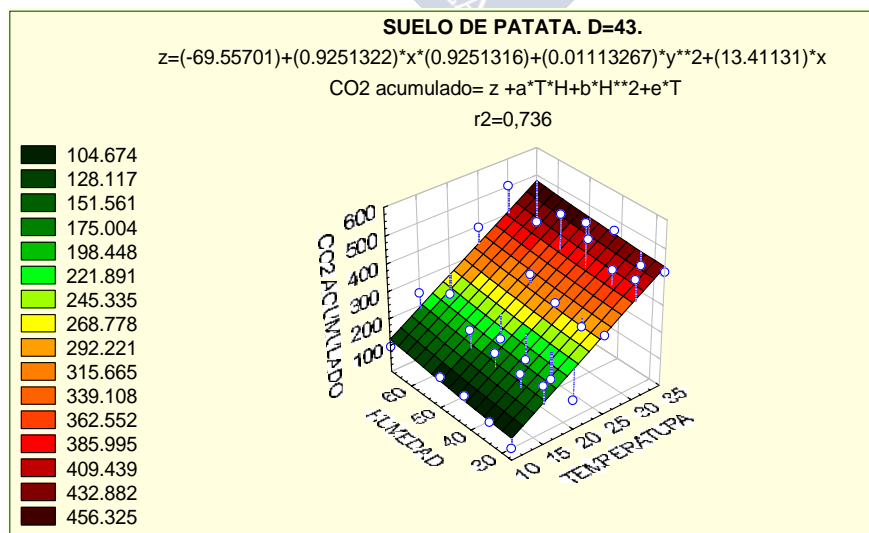


Gráfico L288: Suelo de PATATA. Regresión:  $CO_2 \text{ acumulado} = z + aTH + bH^2 + eT$

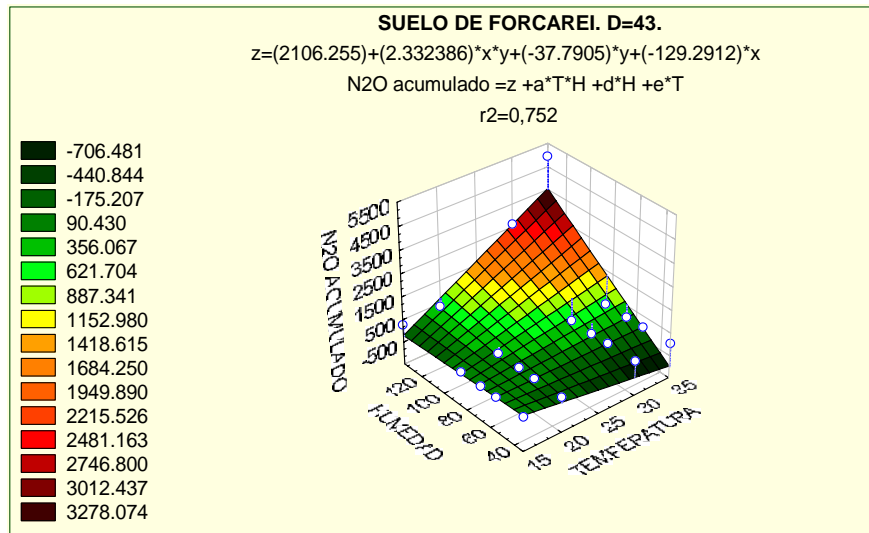


Gráfico L289: Suelo de FORCAREI. Regresión:  $N_2O \text{ acumulado} = z + aTH + dH + eT$

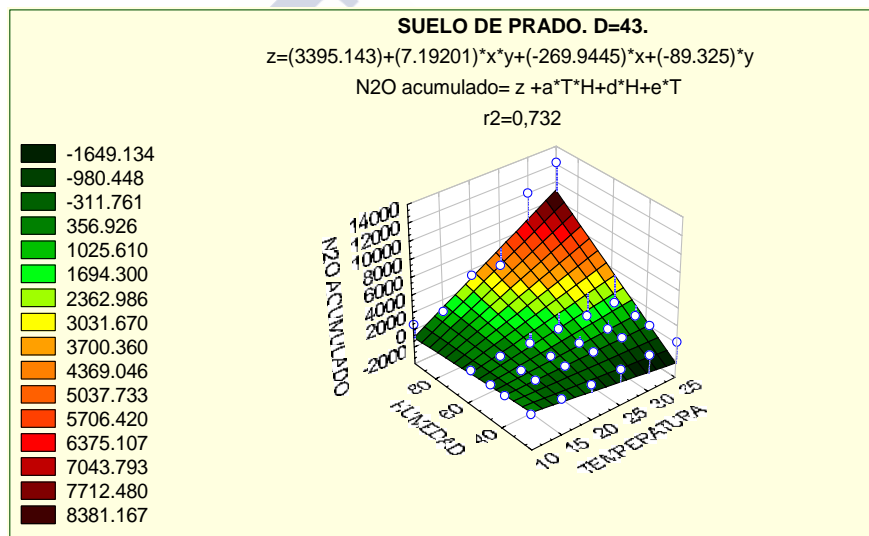


Gráfico L290: Suelo de PRADO. Regresión:  $N_2O \text{ acumulado} = z + aTH + dH + eT$

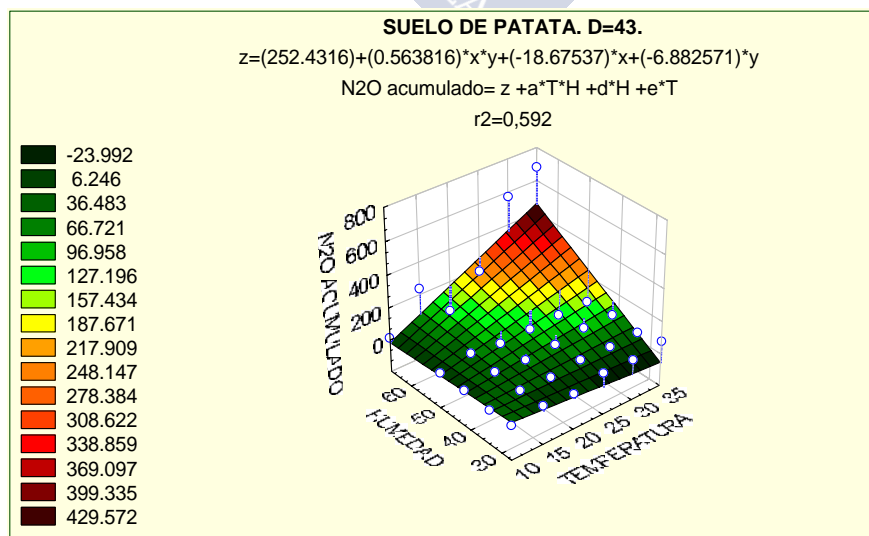
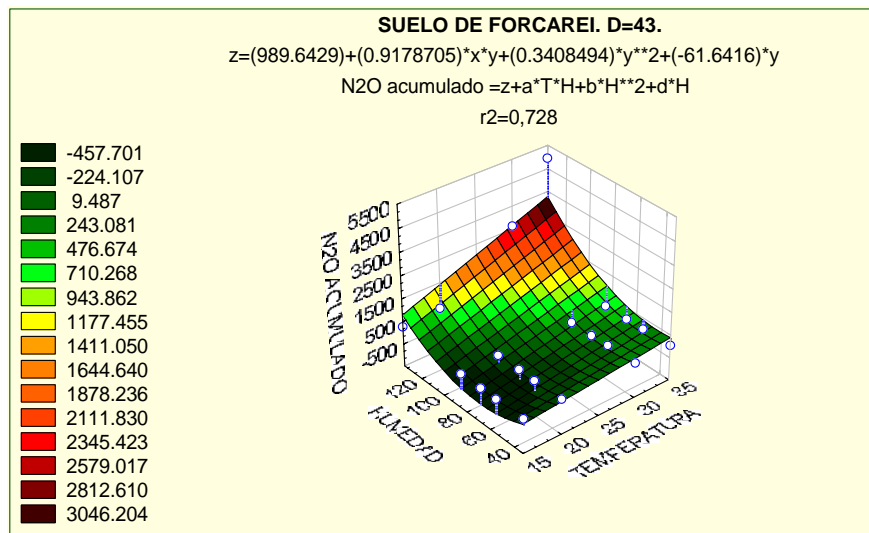
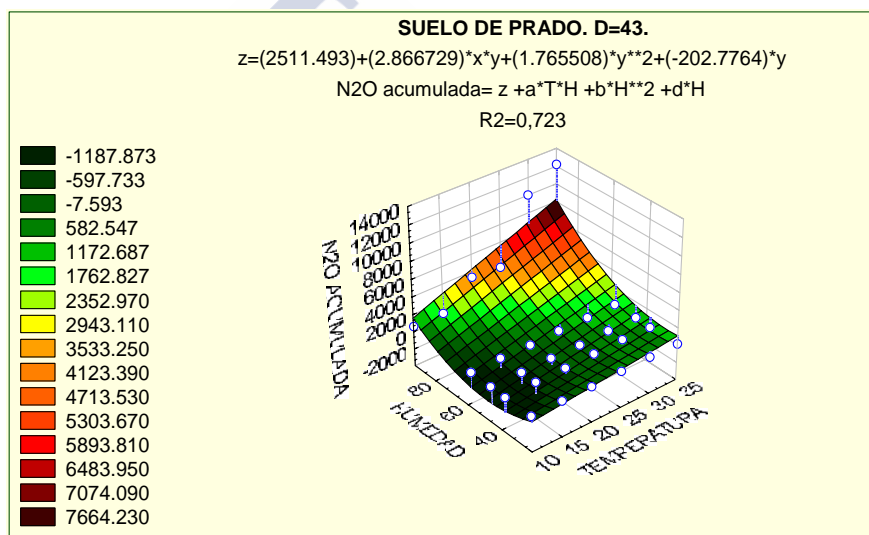
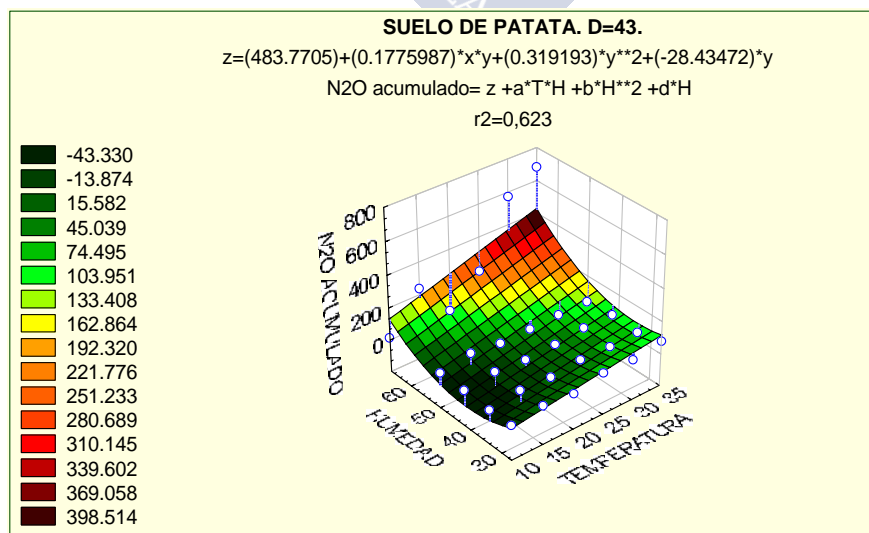


Gráfico L291: Suelo de PATATA. Regresión:  $N_2O \text{ acumulado} = z + aTH + dH + eT$



Gráfico L292: Suelo de FORCAREI. Regresión:  $N_2O \text{ acumulado} = z + aTH + bH^2 + dH$ Gráfico L293: Suelo de PRADO. Regresión:  $N_2O \text{ acumulado} = z + aTH + bH^2 + dH$ Gráfico L294: Suelo de PATATA. Regresión:  $N_2O \text{ acumulado} = z + aTH + bH^2 + dH$

## **V.11.- Discusión.-**

### **V.11.1.- Diseño de incubación. Forcarei 10 y 25 °C:**

Tras el primer diseño de incubación experimentado se han observado ciertos ciclos en el desprendimiento de los gases a partir del suelo de Forcarei, con unos máximos de velocidad de desprendimiento que curiosamente coinciden con el momento de sellado de viales. Estos máximos están marcados en las gráficas de velocidades relativas con unas flechas azules. El caso más evidente es el del CO<sub>2</sub> a 25°C (gráficas L26-L30), donde claramente se observan los máximos siempre después de que se ha producido el cerrado de un grupo de viales. Si bien se observan también indicios de estos ciclos en el CO<sub>2</sub> a 10°C (gráficas L24 y L25), e incluso en el N<sub>2</sub>O (gráficas L32, L34, L35 y L40).

Esta coincidencia hace sospechar que el diseño de incubación influye de alguna manera en la liberación de gases. Se decide que el sellado de los viales se haga de manera progresiva, cada vez que se efectúa una medida se sellarán los de la medida siguiente. De esta manera todos los viales habrán estado cerrados como máximo 4 días y se minimizarán las diferencias que se puedan deber al tiempo de permanencia del suelo en vial sellado (en las primeras incubaciones este tiempo podía variar desde 1 a 15 días).

Con el nuevo diseño se comprueba que la tendencia que adoptan las velocidades relativas de emisión de gases es claramente diferente, ya no se aprecian ciclos, simplemente se observa una evidente disminución en la velocidad de desprendimiento de CO<sub>2</sub>, que tiende a estabilizarse hacia el final de las incubaciones. Esta tendencia, se puede visualizar en las gráficas L86-L90 y L81-L85, para las incubaciones de 30°C y 15°C respectivamente.

En cuanto a la liberación de N<sub>2</sub>O, la tendencia que sigue no es tan evidente como para el CO<sub>2</sub>, simplemente se observan ciertas oscilaciones con algunos casos de explosión en determinados momentos, que se hacen más importantes en el máximo nivel de humedad (gráficas L91-L100). Sin embargo, lo que está claro es que no se pueden apreciar ciclos definidos de ningún tipo.

Es posible que cuando el suelo lleva un cierto tiempo cerrado en los viales, se produzca una estabilización de la cantidad de gas en el espacio de cabeza, bien porque la no retirada de éste inhiba el desprendimiento de nuevas cantidades, bien porque después de un determinado tiempo (más de 5 días) la hermeticidad del sellado de los viales ya no se pueda considerar efectiva al 100%. Ambos motivos harían que la velocidad de emisión medida disminuyese al ir aumentando el número de días que el suelo lleva cerrado en los viales. Además, la teoría de que el gas que haya sido liberado pueda servir como inhibidor para que se produzcan nuevos desprendimientos, viene apoyada por el hecho de que esos ciclos que se pueden apreciar son mucho más evidentes en los casos donde son más importantes las cantidades de gas. (Véanse las gráficas L26-30 correspondientes a la liberación del CO<sub>2</sub> a 25°C, y para comparar las cantidades de gas desprendidas en los distintos casos estudiados para este primer diseño, consúltense las gráficas L1-20).

**OTRAS CONSIDERACIONES.** Han surgido otros problemas durante las incubaciones, a los que se han ido dando soluciones, de manera que se ha ido determinado el diseño definitivo:

- ⇒ *Pérdidas de humedad en las muestras de suelo:* se aprecian sobre todo en aquellas incubaciones que se lleban a cabo a temperaturas más altas. Se solucionaron realizando controles periódicos mediante pesada y adicionando el agua perdida en los casos que fuese necesario. Son importantes, de otra manera no se estaría trabajando en condiciones de humedad controlada.
- ⇒ *Problemas de condensación:* el agua que se adiciona a los herméticos para que se mantenga un ambiente húmedo se evapora, sobre todo cuando las temperaturas son altas, se condensa en las paredes de vidrio con peligro de que en cualquier momento, y debido a la fuerza de la gravedad, pueda caer sobre la sosa (diluyéndola) o bien sobre el suelo de los viales (aumentando considerablemente su nivel de humedad). La solución a uno de estos problemas, fue utilizar Parafilm cubriendo los viales que contenían el suelo, éste permite el intercambio de gases pero impide la caída de agua sobre el suelo. Además, se idearon unos sistemas anticondensación (Ver figura L12) que consisten en unos círculos de polipropileno con dos pestañas rectangulares y que se colocan, sujetándolos con una goma elástica, sobre los botes de sosa evitando la dilución de ésta al impedir que caiga agua dentro del bote.

⇒ *Problemas de evaporación de la sosa:* se aprecian, cuando las temperaturas son elevadas y en aquellos botes herméticos que guardan los viales correspondientes a las medidas de las últimas semanas de incubación. En principio se pensó poner, en estos botes, una cantidad de sosa de concentración lo suficientemente elevada para permitir no cambiarla hasta el momento en que se empezasen a medir los viales allí guardados. El problema vino cuando, a pesar del agua que se añadía en el fondo de los frascos para mantener un ambiente húmedo, se evaporaba parte del agua de la sosa al igual que se producían pérdidas de humedad en el suelo. De esta forma se aumentaría de manera errónea la concentración de la NaOH, por lo que se decidió, que en estos botes que guardaban los viales de las últimas semanas, se cambiaría cada semana.



Figura L12: Sistemas anticondensación.

### V.11.2.- Comparación de los resultados de emisión de CO<sub>2</sub> obtenidos por los dos métodos utilizados: gas-cromatográfico y volumétrico:

Para llevar a cabo la comparación de métodos analíticos y averiguar si existen o no diferencias significativas en los datos obtenidos por uno o por otro, se ha utilizado el “test estadístico T para muestras relacionadas” (“test de la media de las diferencias”).

Dicho test se ha aplicado sólo a los primeros 15 días de cada incubación, el motivo es que en ese momento de la incubación se habrá concluido con las muestras del primer frasco hermético y se procedería a la apertura del segundo. Este hecho podría ser causante de fuentes de variabilidad no controladas, además tendríamos que suponer que durante esos 15 días el desprendimiento de  $\text{CO}_2$  en ambos frascos fuese exactamente el mismo. Se decide por tanto utilizar solamente las medidas correspondientes a las 2 primeras semanas.

Es importante resaltar que las muestras de suelo sobre las que se hacen las medidas simultáneas de  $\text{CO}_2$ , son diferentes, ya que es físicamente imposible que las muestras que ya estén selladas para su análisis por GC, estén a la vez abiertas en botes herméticos para su control por sosa.

Tras la aplicación del “test T para muestras relacionadas” a los datos de los suelos de Prado y Patata (figuras L8 y L9), se obtiene que la probabilidad de la prueba T (significación bilateral) es mayor que 0,05 en ambos suelos, o lo que es lo mismo, el intervalo confidencial de los dos casos incluye el valor 0, por lo que se puede concluir que no existirían diferencias significativas entre la utilización de uno u otro método analítico.

No ocurre lo mismo con los datos del suelo de Forcarei (figura L10) donde la probabilidad de la prueba T es 0,03 ( $<0,05$ ) y por tanto sí existirían diferencias significativas entre los resultados de cromatografía y los del método de sosa. Sin embargo, es para el caso de Forcarei para el que contamos con un número menor de casos (recordar que las dos primeras incubaciones de este suelo no se pueden incluir pues fueron realizadas con un diseño diferente).

Si aplicamos el test T para muestras relacionadas de manera conjunta a los datos de los tres suelos (el número total de casos sería 320. Ver figura L11), obtenemos que la probabilidad de la prueba T es 0,191 ( $>0,05$ ) y el intervalo confidencial incluye el valor 0 (intervalo: -6,4 / 1,3), por tanto podemos concluir que no existen diferencias significativas entre la utilización del método analítico gas-cromatográfico y el de volumetría por retorno, para las medidas del  $\text{CO}_2$  emitido por un suelo.

### **V.11.3.- Cinéticas de desprendimiento:**

Las velocidades de liberación de  $\text{CO}_2$  desde el suelo varían desde 10 a 63 (mg de  $\text{CO}_2$  /100g de ss\*día) en el caso de Forcarei, de 2 a 84 (mg de  $\text{CO}_2$  /100g de ss\*día) en el caso de Prado y de 2 a 22 (mg de  $\text{CO}_2$  /100g de ss\*día) en el caso del suelo de Patata. Las velocidades más elevadas se corresponden con las temperaturas más altas de incubación. La humedad parece que influye menos sobre este parámetro. El suelo de Prado es el que más se ve afectado por la temperatura, aumentándose considerablemente la velocidad de liberación de  $\text{CO}_2$  cuando las temperaturas son más mayores. Incluso es también en este suelo donde se puede apreciar más influencia del porcentaje de humedad, comparando las distintas cinéticas a cada temperatura (gráficas L101-L130). Sin lugar a duda, de los tres suelos estudiados, es el de Patata el que menos respira, seguramente porque es el de menor contenido en materia orgánica.

Las velocidades de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  son mucho menos uniformes, se producen explosiones en determinados momentos que sólo se pueden apreciar en estas gráficas y no en las acumuladas. Al igual que en el caso anterior, son mayores cuando las temperaturas de incubación son más altas, si bien, en se ven mucho más influenciadas por los niveles de humedad del suelo, diferenciándose de manera llamativa dentro de la misma temperatura, aquellos valores correspondientes al mayor porcentaje de humedad del resto. Otra vez vuelve a ser el suelo de Patata el menos activo en cuanto a la liberación de  $\text{N}_2\text{O}$  (desde 0,3 a 80  $\mu\text{g}$  de  $\text{N}_2\text{O}$  /100g de ss\*día , salvo una explosión que llega a los 240 en la máxima humedad a 30°C, gráfica L215). Las velocidades en Forcarei van desde 0,3  $\mu\text{g}$  de  $\text{N}_2\text{O}$  /100g de ss\*día, hasta 360 en las temperaturas más altas con máxima humedad. El suelo de Prado es con mucho el que más velocidad de liberación consigue llegando hasta los 2400 y 3500  $\mu\text{g}$  de  $\text{N}_2\text{O}$  /100g de ss\*día (gráficas L155 y L160), siendo nuevamente el que más se ve influido por los cambios de temperatura y humedad.

### **V.11.4.- Medidas acumuladas:**

Las gráficas L221-L282 corroboran la gran influencia que tiene la temperatura sobre la emisión de  $\text{CO}_2$ , mucho más importante de la que pueda tener la humedad. Sin embargo, es el



nivel de humedad de los suelos el factor más determinante para la liberación de  $N_2O$ , si bien es cierto que esta relación se manifiesta más cuando las temperaturas de incubación son más elevadas. Pero para conocer realmente cómo influyen éstos factores sobre el desprendimiento de gases desde el suelo, se han estudiado los distintos modelos de regresión posible.

### V.11.5.- Modelos de emisión de gases:

V.11.5.1.- TRES VARIABLES INDEPENDIENTES: TIEMPO, TEMPERATURA, HUMEDAD.

PARA EL  $CO_2$  (Tabla L8):

Destacar que, el máximo grado de asociación le corresponde al producto DT en todos los suelos (consultar tablas L2, L3 y L4). El análisis de regresión que cuenta con el producto DT como única variable independiente, ya obtiene valores de coeficientes de determinación superiores a 0,84 en todos los casos.

En el caso del  $CO_2$  tienen un papel más determinante los coeficientes dependientes de la temperatura que los de la humedad. Por ejemplo el término  $T^2$  sí tiene aquí significación, mientras que tiene menos el término  $H^2$ .

Las regresiones lineales sin términos cuadráticos ni interacciones (polinómicas de primer grado), teniendo como variables independientes T, D y H, consiguen coeficientes de determinación mayores que 0,78 en los tres tipos de suelos estudiados.

Adoptando una solución de compromiso entre la simplicidad de la ecuación y el máximo valor para el coeficiente de determinación, nos quedaríamos con una ecuación de 3 miembros que bien podrían ser:

$$CO_2 \text{ liberado} = z + c T^2 + e H + h DT$$

ó

$$CO_2 \text{ liberado} = z + d D + g DH + h DT$$

Las dos explicarían la emisión de  $CO_2$  en cada momento, a partir de la temperatura, la humedad, y los días de incubación transcurridos.

PARA EL N<sub>2</sub>O (tabla L9):

El máximo grado de asociación es para el producto HT en todos los suelos (consultar tablas L5, L6 y L7). La importancia después es para las variables: DH, H, T, H<sup>2</sup>, si bien el orden de éstas depende del tipo de suelo, en los tres suelos estudiados destacan sobre el resto de variables independientes.

Al contrario que en el caso del CO<sub>2</sub>, aquí adquieren más importancia los coeficientes dependientes de la humedad que de la temperatura. Aunque lo más importante es TH. El término T<sup>2</sup> tiene poca significación así como tienen también poca importancia los términos dependientes del tiempo: D, DT, D<sup>2</sup>.

Los coeficientes de determinación son en cualquier caso menores que los obtenidos para el CO<sub>2</sub>, por lo que no es posible llegar a una ecuación tan simplificada. Se podría considerar adecuada la de 4 miembros:

$$\text{N}_2\text{O liberado} = z + b \text{H}^2 + e \text{H} + f \text{T} + i \text{TH}$$

donde queda patente la mayor influencia del nivel de humedad, a la hora de producirse N<sub>2</sub>O a partir de un suelo.

#### V.11.5.2.- DOS VARIABLES INDEPENDIENTES: TEMPERATURA, HUMEDAD.

PARA EL CO<sub>2</sub> (Tabla L11):

Vuelve a quedar patente la importancia que tiene la temperatura sobre la emisión de CO<sub>2</sub>, la cual quedaría perfectamente determinada por los términos T<sup>2</sup>, H y T:

$$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c \text{T}^2 + d \text{H} + e \text{T}$$

O incluso solamente con:

$$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + c \text{T}^2 + d \text{H}$$

Es también interesante el modelo que contiene las variables independientes: TH, H<sup>2</sup> y T. Es el que, con tres términos, consigue un coeficiente de determinación más próximo a 1 para el suelo de patata, no disminuyendo demasiado los valores de los r<sup>2</sup> de los otros dos suelos:

$$\text{CO}_2 \text{ liberado} = z + a \text{TH} + b \text{H}^2 + e \text{T}$$



Se trata de ecuaciones convenientemente simplificadas que obtienen unos buenos coeficientes de determinación para los tres suelos estudiados. En las gráficas L283-L288, se consigue visualizar cómo el aumento de temperatura de incubación hace que se incremente la emisión de  $\text{CO}_2$  en gran medida. Sin embargo, aunque al crecer el valor de la humedad del suelo, también lo hace la cantidad de dióxido de carbono desprendido, el efecto de la humedad es mucho menos importante que el de la temperatura.

PARA EL  $\text{N}_2\text{O}$  (Tabla L10):

Resaltar otra vez la poca significación del término  $T^2$ . Tampoco  $T$  tiene mucha significación. Sin embargo, es muy importante otra vez  $\text{TH}$ . Si nos quedamos con una ecuación de 3 variables se podrían elegir:

$$\text{N}_2\text{O liberado} = z + a \text{ TH} + d \text{ H} + e \text{ T}$$

ó

$$\text{N}_2\text{O liberado} = z + a \text{ TH} + b \text{ H}^2 + d \text{ H}$$

En las gráficas L289-L294, se puede visualizar la influencia de un aumento de  $T$  y  $H$  sobre la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  para los tres tipos de suelos estudiados, si siguiesen estos modelos teóricos propuestos. En este caso el parámetro más importante es la humedad del suelo, cuando los valores de ésta son elevados, se incrementa enormemente la cantidad de  $\text{N}_2\text{O}$  desprendido. Si bien la influencia de la humedad se manifiesta más cuando las temperaturas de incubación son elevadas.

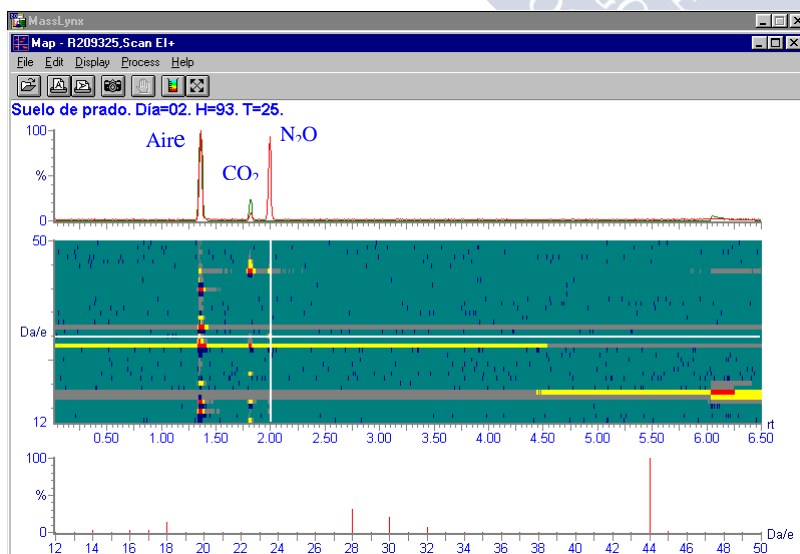


Figura L13: Mapa obtenido a partir del procesamiento, con el Masslynx, de un cromatograma de gases emitidos por el suelo de prado ( $D=2$   $H=93$   $T=25$ ) mediante "full scan" (cromatograma verde). La cruz blanca corresponde al punto elegido en ese momento: el cromatograma rojo resulta de la sintonización de la masa 30, mientras el espectro corresponde al pico del tiempo de retención del  $\text{N}_2\text{O}$ .



## **VI.- EXPERIENCIAS DE CAMPO.-**

## **VI.1.- Objetivo.-**

El primer objetivo será diseñar una metodología adecuada que permita la toma de muestras de gases invernadero desprendidos por suelos procedentes de distintos lugares. Así como un sistema apropiado que haga factible el transporte desde el lugar de recogida hasta el laboratorio, donde se procederá a su determinación analítica.

Una vez conseguido lo anterior, se llevarán a cabo experiencias de campo diseñadas de tal manera que, por un lado, permitan la validación tanto del método analítico como de los diseños de muestreo y transporte, y por otro, hagan factible el estudio de las emisiones de estos gases a partir de suelos con distinta situación geográfica, así como la influencia que un posible cambio climático tendría sobre dichas emisiones.

## **VI.2.- Reactivos utilizados.-**

- ✓ Helio N-50, suministrado por la Sociedad Española de Oxígeno.
- ✓ Agua desmineralizada, calidad Milli-Q (Millipore Corporation).
- ✓ Patrones de los gases, preparados por la Sociedad Española de Oxígeno. Descritos en el apartado I.2.

## **VI.3.- Material e instrumentación.-**

- ✓ Anillos de PVC (32 cm de diámetro x 30 cm de altura).
- ✓ Cámaras de PVC (20,8 L de volumen y 7,9 dm<sup>2</sup> de área en su base) con salida metálica para gases (diámetro 0,5 mm).
- ✓ Tubo de goma flexible (diámetro 0,6 mm).
- ✓ Pinzas de Hoffmann.

- ✓ Viales (de 20 mL, y tamaño 75x22 mm), cápsulas metálicas y “septums” de “teflon/gray butyl” de 20mm de diámetro, todos ellos apropiados para el espacio de cabeza.
- ✓ Jeringas de 100 mL de uso medicinal y agujas desechables.
- ✓ Cromatógrafo de gases GC 8000 series (Fisons) con presión digital y regulador de flujo DPFC 800, y módulo de espacio de cabeza con inyector automático HS 850. Columna capilar GS-Q, (J&W Scientific, 30 m x 0.32 mm x 0  $\mu$ m) y detector de espectrometría de masas MD-800 con fuente de Impacto Electrónico.
- ✓ Ordenador personal con el software Pentium Digital Venturis (Digital Equipment Corporation), con 24,0 MB de memoria RAM en entorno Windows 95.
- ✓ Software de adquisición de datos (MS) MASSLAB versión 1.4.
- ✓ Software de adquisición de datos (MS) MASSLYNX versión 2.0.
- ✓ Bibliotecas de espectros Wiley y Nist.
- ✓ Hoja de cálculo Excel 7.0 de Microsoft Office 97.
- ✓ SPSS (versión 9.0) y STATISTICA (versión 4.5) para Windows para el tratamiento estadístico de los datos.

#### **VI.4.- Procedimiento.-**

Se suceden los pasos descritos a continuación:

- 1) Recogida de la atmósfera del suelo en el lugar de muestreo. Desde cámaras estáticas y selladas, consistentes en dos piezas de PVC de tal manera que solamente la base es la que ha de estar permanentemente instalada en el suelo, mientras que lo que es la cámara ( $\approx 20,8$  L) se colocará sobre ella durante un tiempo prefijado permitiendo la acumulación de gases que hayan sido desprendidos desde el suelo encerrado (Hantschel, 1995; Flessa y col., 1998; Chang y col., 1998). Las cámaras de PVC poseen una salida metálica para los gases, con una prolongación de tubo de goma que es utilizada para la toma de muestras: mediante una jeringa, se perfora la goma y se extraen 100 mL de gas. Una vez hecho esto, es necesario mover la pinza de Hoffmann (cierre), dejando inutilizada la zona de goma perforada.



**Figura C1: Recogida de los gases desde las cámaras instaladas en el suelo.**

- 2) Transvase de los gases recogidos en la jeringa a viales de 20 mL, que permiten el traslado de las muestras desde el campo al laboratorio. Los viales son llenados previamente con agua destilada, y en ellos se introduce el gas de la jeringa siguiendo lo descrito en el apartado IV.5.a de la presente memoria. (IV.5.a: “Manejo y transporte de gases”).



**Figura C2: Transvase de los gases recogidos en las cámaras a viales.**

- 3) Análisis cromatográfico (GC-MS) de las muestras. Método descrito en el apartado IV.4 de esta memoria.

## **VI.5.- Identificación, confirmación y cuantificación.-**

La identificación de los distintos compuestos gaseosos presentes en las muestras, se lleva a cabo por comparación de los tiempos de retención de sus picos, con los de los correspondientes en un cromatograma de un patrón que es inyectado en las mismas condiciones analíticas. Se intercala la inyección de un patrón entre grupos de muestras no superiores a seis.

Además se confirma la identidad de cada compuesto por comparación del espectro de masas con los almacenados en las bibliotecas Wiley y Nist, cuando la similitud entre ellos es mayor del 800 % tanto en “for” como “rever”.

La cuantificación se realiza en base al método del estándar externo, mediante el cálculo del factor de respuesta (RF), que se define como la relación existente entre el área de un pico y la concentración del analito correspondiente. Este valor se mantiene constante para un mismo compuesto, ya esté presente en un patrón o en una muestra, si es analizado en las mismas condiciones, así:

$$RF_P = RF_M \Leftrightarrow \frac{A_P}{C_P} = \frac{A_M}{C_M}$$

En base a lo anterior, la concentración de analito en la muestra se puede calcular según la ecuación siguiente:

$$C_M = \frac{A_M * C_P}{A_P} \quad \left( \frac{\text{mg} \text{ ó } \mu\text{g}}{\text{L}} \right)$$

$C_M$ = concentración del analito en la muestra.

$C_P$ = concentración del analito en el patrón.

$A_M$ = área del pico del analito en cromatograma de la muestra.

$A_P$ = área del pico del analito en cromatograma del patrón.

## **VI.6.- Estudio de la emisión de gases tras haber añadido al suelo purín procedente de ganado vacuno.**

### **VI.6.1. Objetivo:**

El primer objetivo es tratar de identificar los compuestos gaseosos que van a ser desprendidos por un suelo. Mediante la adición de purín, se modifican las condiciones iniciales del suelo, se incrementa enormemente la actividad de los microorganismos que residen en él y por tanto aumentan las posibilidades de que se emitan gases. Se estudian las variaciones en las velocidades de desprendimiento, para cada uno de los gases encontrados bajo estas condiciones.

### **VI.6.2. Localización:**

Las medidas se han llevado a cabo en febrero de 1998 y septiembre de 1999, en el Campus Universitario de Santiago de Compostela, tras haber añadido purín procedente de ganado vacuno al suelo contenido en el del anillo de PVC.

### **VI.6.3. Reactivos y material:**

Además de lo descrito en los apartados VI.2 y VI.3 serán necesarios:

- ✓ Purín procedente de ganado vacuno (suministrado por una Escuela de Capacitación Agrícola y por un establo de una casa particular).
- ✓ pH-metro 507 (CRISON) con electrodo combinado de pH (CRISON 52-02), y electrodo combinado de platino para medidas de Eh (CRISON 52-61), dotado con sonda para medir temperatura.



**Figura C3: Medición del Eh y temperatura del suelo.**



#### VI.6.4. Diseño de la experiencia:

- A. PRIMERA EXPERIENCIA.- A las 10:30 de la mañana, se corta la vegetación que haya crecido sobre el suelo del sitio de estudio (anillo de PVC), se instala la cámara estática sobre él y se toma una muestra de gas (tiempo = 0). Una vez hecho esto, se separa la cámara, y se vierte aproximadamente 1 litro de purín dentro del anillo cuidando que quede uniformemente repartido (Dosis de purín: 126,58 m<sup>3</sup>/Ha). Se vuelve a colocar la cámara y transcurridos 15 minutos se toma una muestra (por duplicado), y se retira de nuevo la cámara. A partir de ese momento, y cada dos horas, se mantiene la cámara sobre el anillo durante 15 minutos, después de los cuales se extrae un duplicado de gas de la atmósfera del suelo. El segundo día de experiencia, la cámara para la toma de muestras se coloca cada 4 horas y los días 5 y 8 se vuelve a hacer una medida. Con cada una de las muestras recogidas se procede al análisis cromatográfico para determinar su composición. Se ha llevado un registro de los valores de Eh, pH y temperatura del suelo del interior del anillo a la profundidad de 0,5 cm, correspondientes a cada medida.
- B. SEGUNDA EXPERIENCIA.- Se diferencia básicamente de la anterior, en que el volumen vertido de purín es mayor (1500 mL. Dosis: 189,87 m<sup>3</sup>/Ha). A partir del segundo día, los controles se efectúan de una manera cada vez más dispersa, hasta el día 8 donde se realiza un solo control. Para cada uno de estos controles se obtiene información de la composición de la atmósfera del suelo a tres tiempos diferentes, tras haber realizado los análisis cromatográficos correspondientes.

#### VI.6.5. Cálculos:

Una vez conocidas las concentraciones de los analitos en las muestras se calcula la velocidad de desprendimiento de cada uno de los analitos siguiendo la ecuación siguiente:

$$\frac{\text{mg}}{\text{m}^2 * \text{h}} = \frac{(\text{C}_h - \text{C}_0) * V}{\text{Sup} * h}$$

C<sub>h</sub> = concentración del analito transcurrido un tiempo igual a “h” horas.



$h$  = tiempo transcurrido (horas).

$C_0$  = concentración del analito a tiempo cero.

$V$  = volumen de la cámara estática, expresado en litros.

$Sup$  = superficie de suelo igual al área sectorial del anillo de PVC, en  $m^2$ .

A partir de los valores registrados de  $Eh$  y  $pH$ , se calculan los correspondientes de  $pe$  para cada medida, teniendo en cuenta la siguiente equivalencia (Patrick y col., 1996):

$$Eh (mV) = 59,2 * pe \quad pe = - \log [e^-]$$

Representando los valores experimentales de  $pe$  frente a los de  $pH$ , y comparándolos con los diagramas de los modelos teóricos de las especies en equilibrio, se puede obtener información sobre la estabilidad de cada una de las especies en cada punto, dependiendo de su proximidad con el campo en el que las condiciones *redox* hacen que dicha especie aparezca como la más probable.

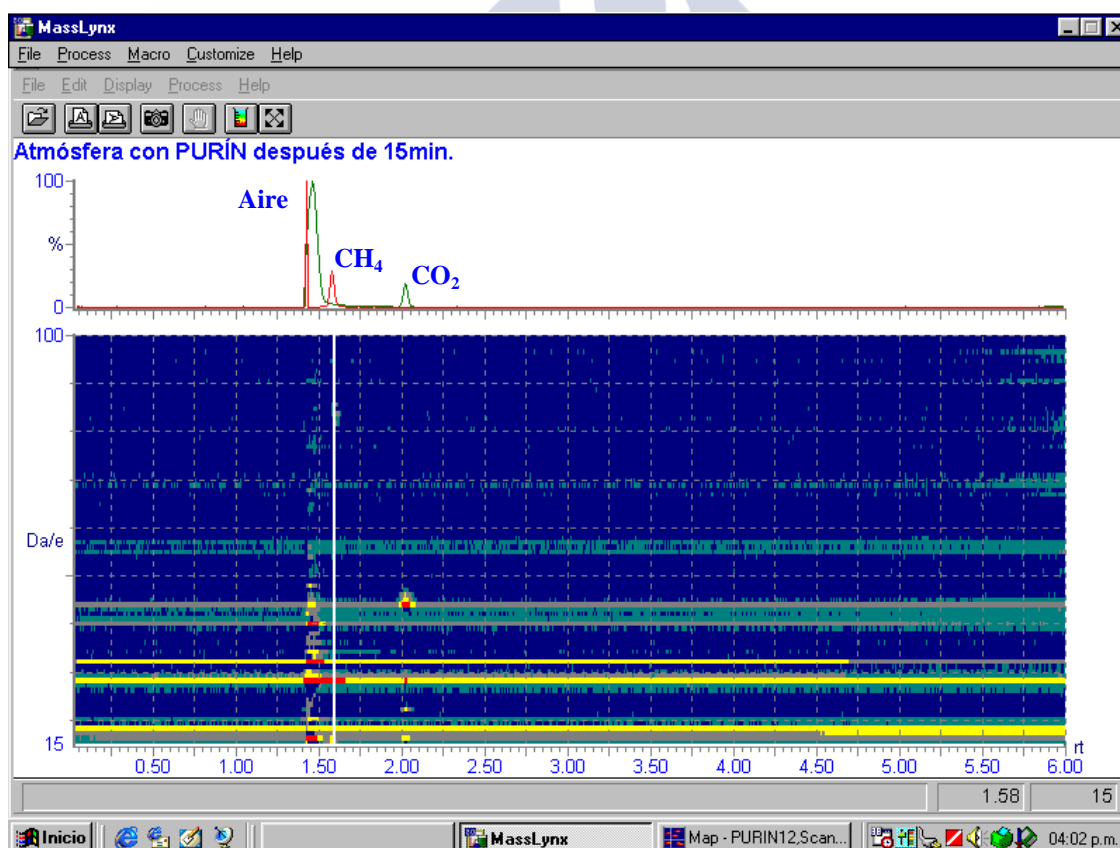
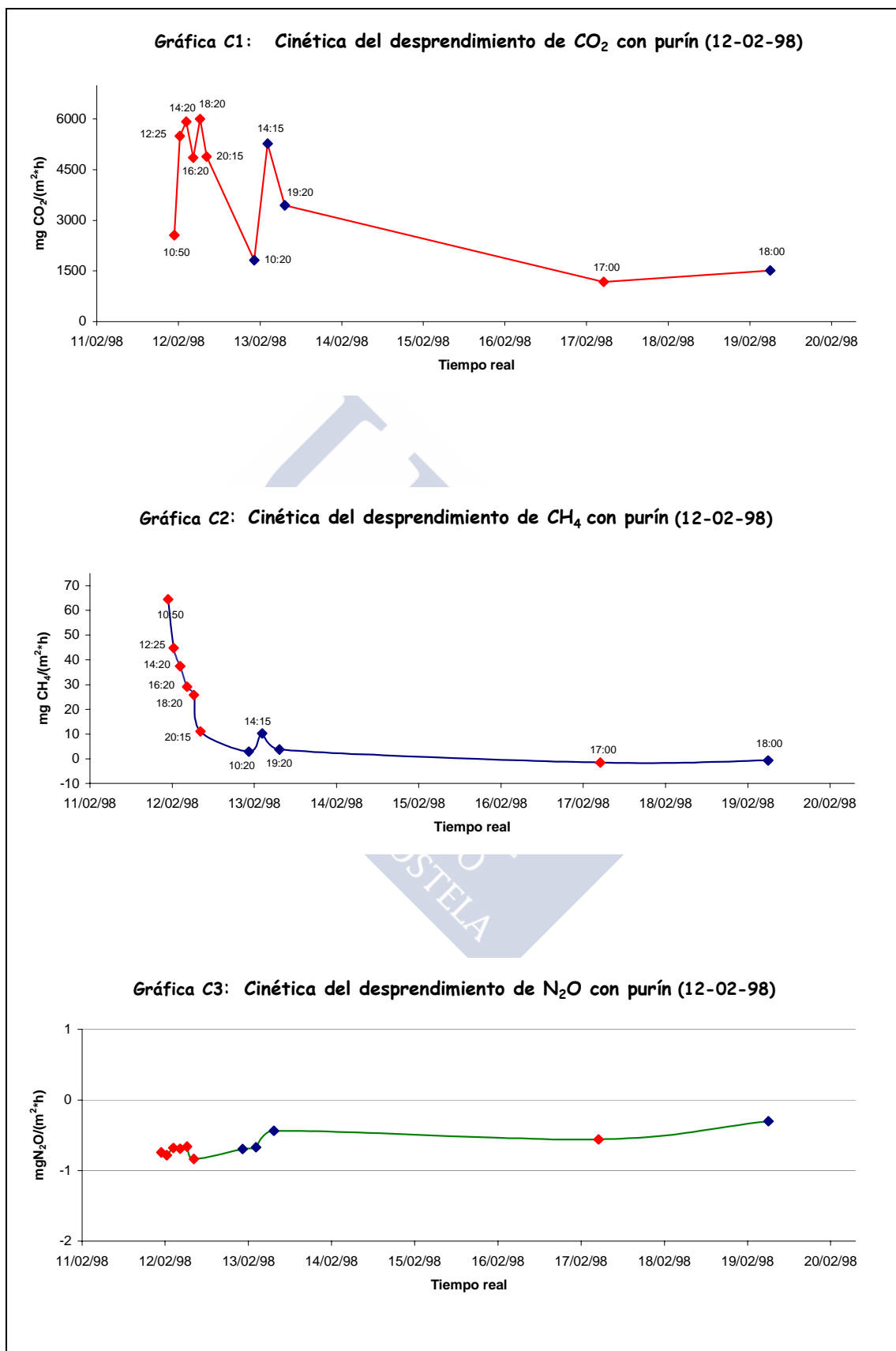
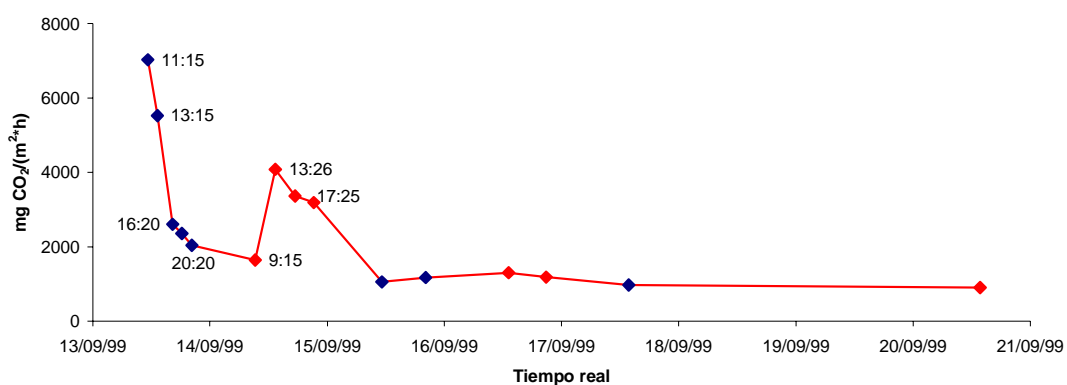
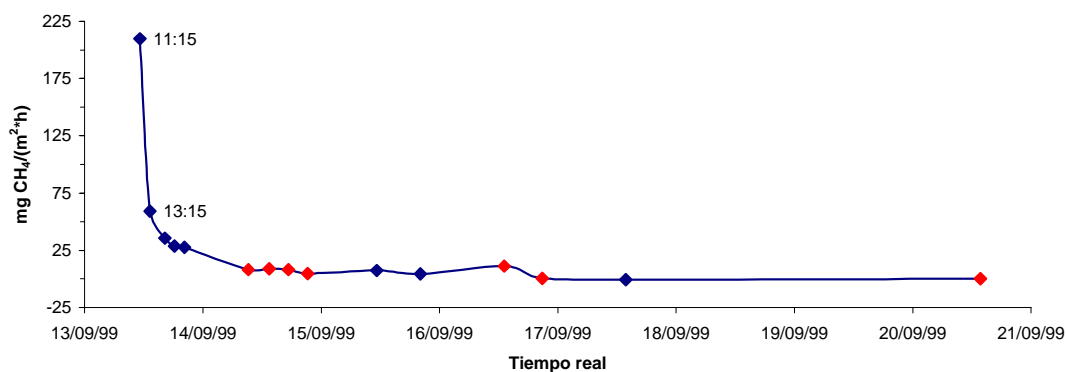
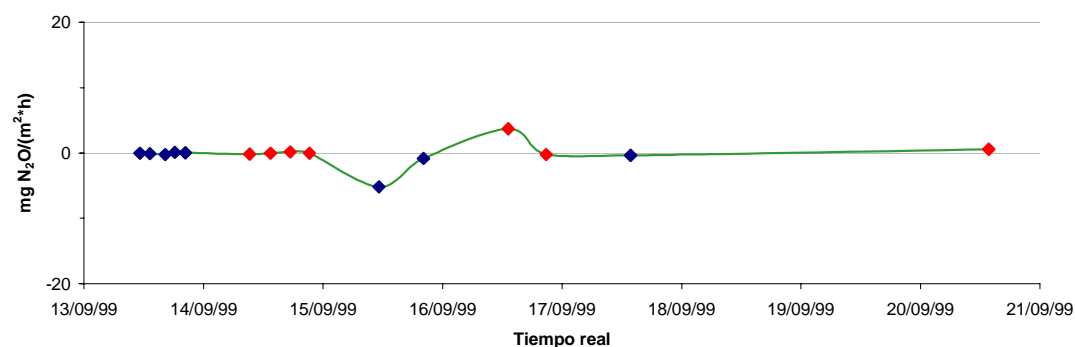


Figura C4: Mapa obtenido a partir del procesamiento, con el Masslynx, de un cromatograma de gases recogidos desde un suelo con purín. El cromatograma verde corresponde a la señal "full scan". El cromatograma rojo resulta de la sintonización de la masa 15.

## VI.6.6. Resultados:

Gráficas C1, C2 y C3: Cinéticas de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{N}_2\text{O}$  en la primera experiencia de Purín.

**Gráfico C4: Cinética del desprendimiento de  $\text{CO}_2$  con purín (13-09-99)****Gráfico C5: Cinética del desprendimiento de  $\text{CH}_4$  con purín (13-09-99)****Gráfico C6: Cinética del desprendimiento de  $\text{N}_2\text{O}$  con purín (13-09-99)**

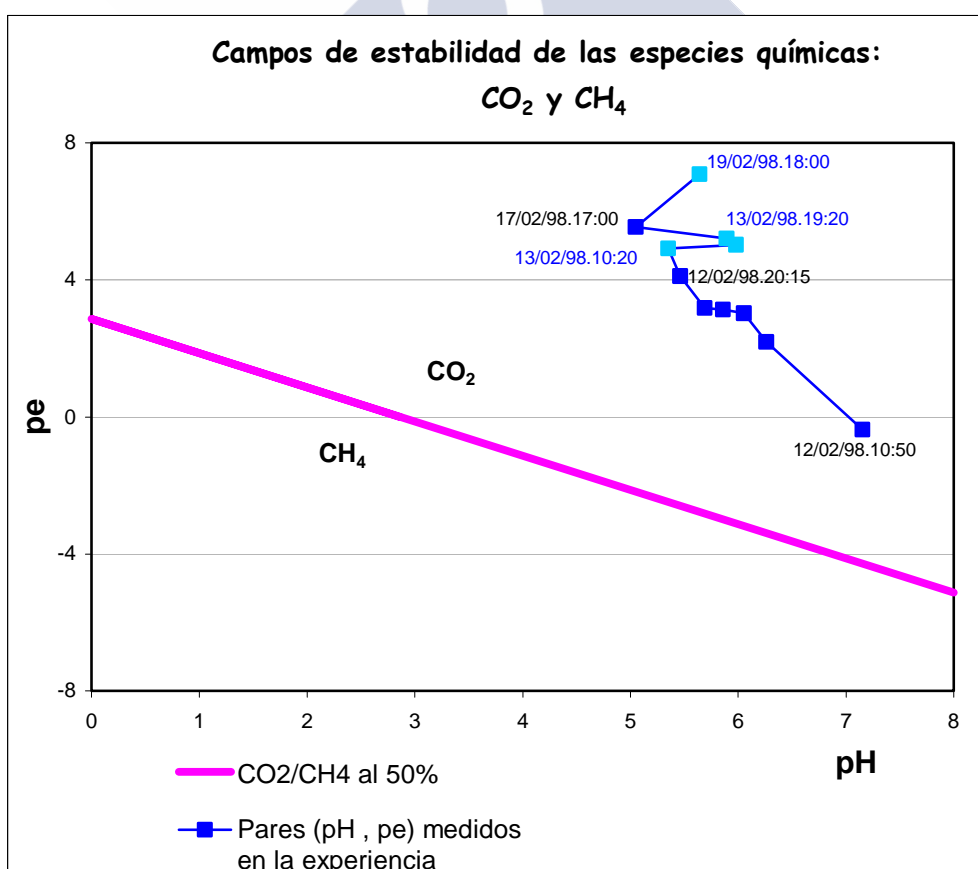
Gráficas C4, C5 y C6: Cinéticas de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{N}_2\text{O}$  en la segunda experiencia de Purín.

En las **gráficas C1-C6**, se pueden visualizar las velocidades de los tres gases detectados en ambas experiencias tras la adición de purín al suelo. Las cinéticas, en ambos casos, son perfectamente comparables:

- CO<sub>2</sub>: desprendimiento enorme al principio de la experiencia, luego disminuye hasta valores constantes. Máximos en los valores del mediodía.
- CH<sub>4</sub>: Disminución progresiva en su emisión hasta hacerse cero.
- NO<sub>2</sub>: Consumo/Emisión pero siempre valores muy próximos a cero.

En las gráficas anteriores, se han señalado con diferentes colores los puntos correspondientes a días distintos. Además se han incluido algunas horas de muestreo con el fin de facilitar la comparación entre ambas experiencias. Las cantidades de gases desprendidos son mayores en la 2ª experiencia, si bien en este caso se añadió una mayor cantidad de purín.

Con el fin de tratar de explicar la desaparición constante del metano, se han representado los pares (pH , pe) medidos en cada momento de muestreo. **Gráfica C7**.



**Gráficas C7: Campos de estabilidad de las especies químicas CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>. Pares (pH , pe) medidos en cada momento de la primera experiencia del purín (12-19/02/98).**

La línea rosa de la gráfica C7 separa los campos de estabilidad de las dos especies, y corresponde al nivel donde la estabilidad para ambos es el 50%, viene definida por la ecuación de la recta que se deduce a partir de su reacción de equilibrio:



$$\log K = \log \left[ \frac{[\text{CH}_4] \cdot [\text{H}_2\text{O}]^2}{[\text{CO}_2] \cdot [\text{e}^-]^8 \cdot [\text{H}^+]^8} \right] = 22,91$$

$$\log K = 22,91 = \log [\text{CH}_4] - \log [\text{CO}_2] + 8 \text{ pe} + 8 \text{ pH}$$

De lo que se deduce que el metano y el dióxido de carbono estarán en concentraciones iguales siempre que:

$$\mathbf{8 \text{ pe} + 8 \text{ pH} = 22,91}$$

En la gráfica C7, se puede observar cómo los valores de los pares (pe , pH) medidos el los momentos de recogida de gases (en color azul), se alejan cada vez más de esta línea donde cohabitan en la misma concentración el CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>. Es decir, los puntos cada vez se alejan más del campo de estabilidad del metano, y las condiciones de pH y Eh se van haciendo más propicias para que, esta especie, desaparezca en mayor medida.

## **VI.7.- Estudio de las cinéticas de flujo de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O desprendidos desde un suelo a lo largo de un día.**

### **VI.7.1. Objetivo:**

Se pretende conocer la variación en las velocidades de desprendimiento de los gases CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O, a lo largo de un día. En base a esto se decidirán las condiciones óptimas para llevar a cabo la dinámica anual: duración y momento idóneo de las medidas.

### **VI.7.2. Localización:**

Las medidas se han llevado a cabo en el mes de octubre de 1997, en el Campus Universitario de Santiago de Compostela, donde ha sido instalado uno de los anillos de PVC.

### **VI.7.3. Diseño de la experiencia:**

- A. MEDIDAS ACUMULADAS.- A las 9:30 de la mañana, se instala la cámara estática sobre el anillo en el sitio de estudio y se toma una muestra de gas (tiempo = 0). Desde ese momento, se deja colocada la cámara estática y desde ella se extraen duplicados de la atmósfera del suelo, a distintos tiempos durante el transcurso del día (1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 y 10 horas). Se procede al análisis cromatográfico de las muestras para determinar su composición.
- B. MEDIDAS EN INTERVALOS.- Se hacen medidas sobre la atmósfera del suelo en distintas horas de un día, después de haber estado colocada la cámara estática durante un tiempo prefijado y constante (2 horas). Se cogen los blancos correspondientes para cada tiempo cero, en cada una de las medidas. Las muestras y los blancos son analizados por GC-MS.

### VI.7.4. Cálculos:

Una vez conocidas las concentraciones de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  en las muestras, se calculan las velocidades de desprendimiento de cada uno siguiendo lo explicado anteriormente en el apartado VI.6.5 de la presente memoria.

### VI.7.5. Resultados:

#### VI.7.5.a.- MEDIDAS ACUMULADAS.-

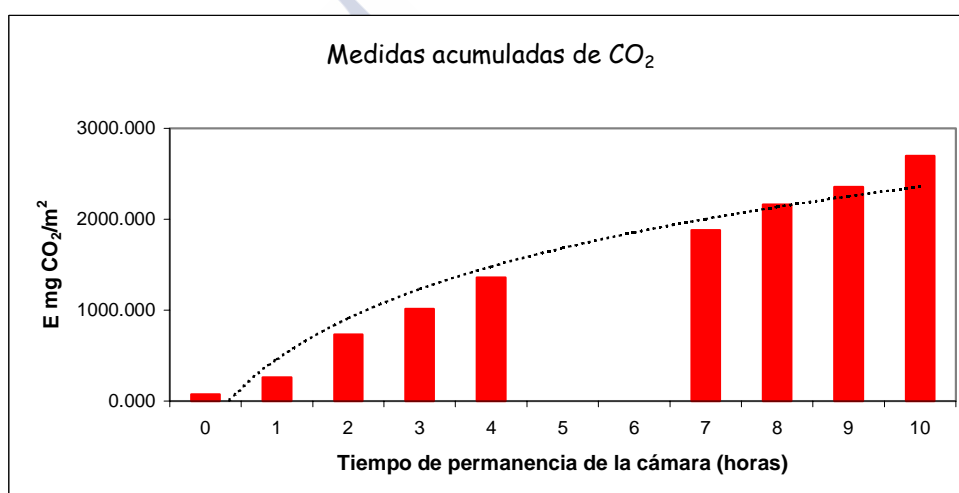


Gráfico C8.

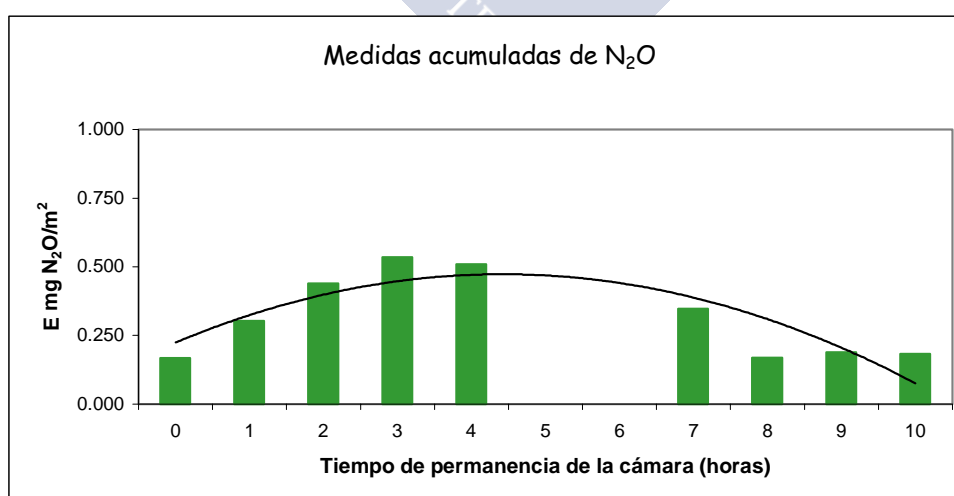


Gráfico C9.

Gráficas C8 y C9:  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  acumulados a lo largo de 1 día durante el cual permanece instalada la cámara de muestreo sobre el suelo.

En la **gráfica C8** se puede observar como la acumulación de  $\text{CO}_2$  se produce rápidamente al principio, y más lentamente al final del día. No ocurre lo mismo con el  $\text{N}_2\text{O}$  (**gráfica C9**), las cantidades de óxido nitroso se acumulan progresivamente durante las tres primeras horas del estudio, aunque éstas son mucho menores que las de  $\text{CO}_2$ . Sin embargo, a partir de ese momento, la cantidad de este gas almacenada en la cámara comienza a disminuir, es decir, se estarían produciendo velocidades negativas, o lo que es lo mismo, consumo de  $\text{N}_2\text{O}$  por los microorganismos del suelo. Para confirmar todo esto y conocer además, en que momento del día se producen las mayores emisiones de gas, se calculan las velocidades de emisión, que se pueden visualizar en las **gráficas C10 y C11**.

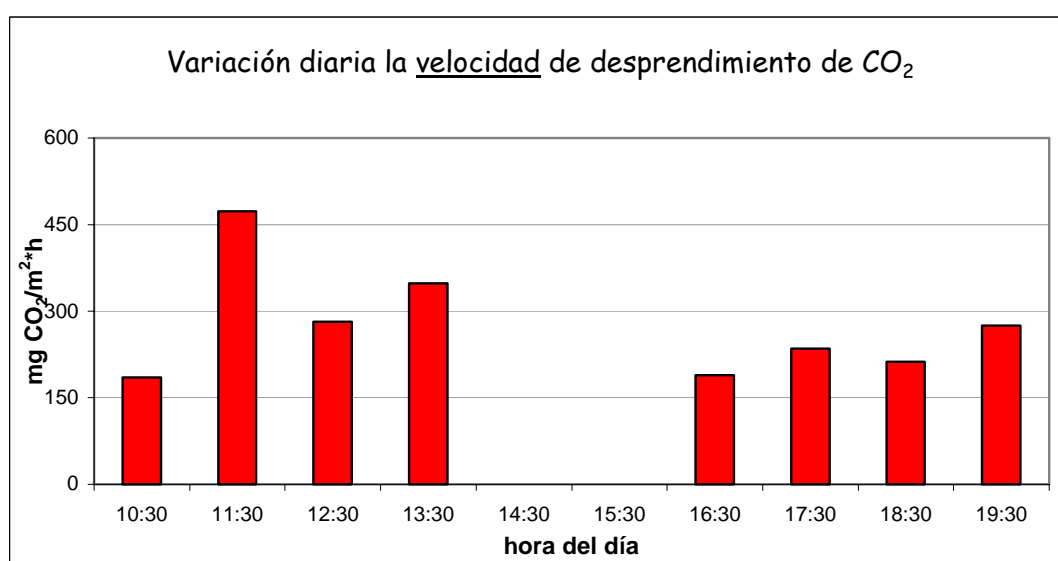


Gráfico C10.

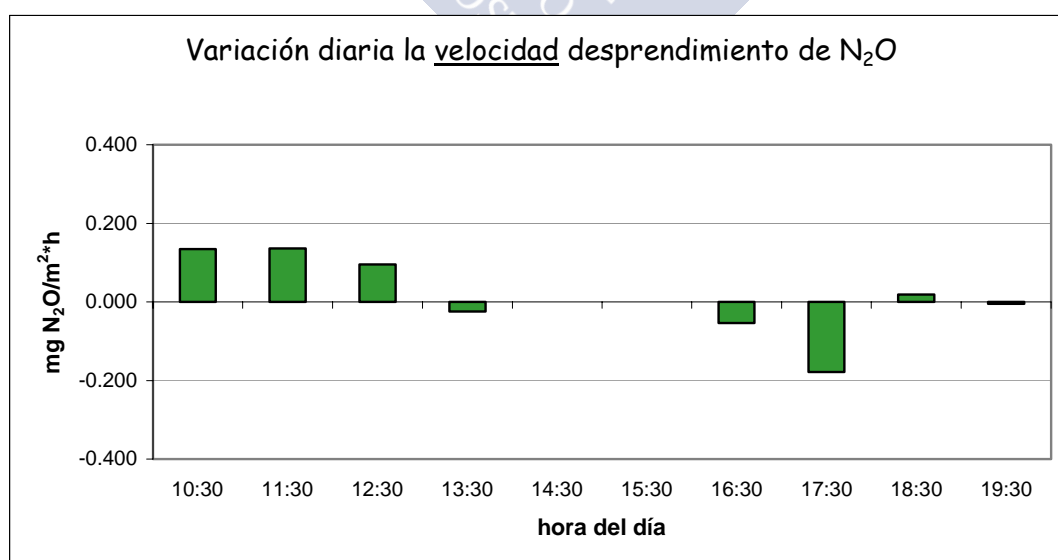


Gráfico C11.

**Gráficas C10 y C11: Velocidades de emisión de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  a lo largo de 1 día durante el cual permanece instalada la cámara de muestreo sobre el suelo.**



De acuerdo con los resultados obtenidos se puede deducir:

1. Las velocidades de máxima emisión de  $\text{CO}_2$  coinciden con las horas del final de la mañana, posiblemente por darse las condiciones de temperatura más elevada. Es por esto, que, en la medida de lo posible, se decide llevar a cabo los muestreos periódicos en las horas próximas a las 12:00 del mediodía.
2. Durante las dos primeras horas la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  se mantiene, pero a partir de ahí comienza a disminuir, llegando a hacerse negativa, es decir, el  $\text{N}_2\text{O}$  que había sido desprendido por los microorganismos del suelo, va ser consumido por los mismos. La velocidad con que el óxido nitroso se emita o consuma parece no estar determinada por la hora del día. En relación a esta cuestión, se decide que el tiempo de permanencia de la cámara durante el muestreo no sea superior a dos horas. Períodos de tiempo superiores podrían llevar a resultados erróneos debido a la presencia simultánea de emisión y consumo de óxido nitroso.

#### VI.7.5.b.- MEDIDAS EN INTERVALOS.-

Se estudian las velocidades de emisión de dichos gases a lo largo del día, utilizando el tiempo prefijado de 2 horas para la permanencia de la cámara de muestreo. En la figura C11, se vuelve a poner de manifiesto que las máxima emisiones de  $\text{CO}_2$  se producen en las horas del mediodía.

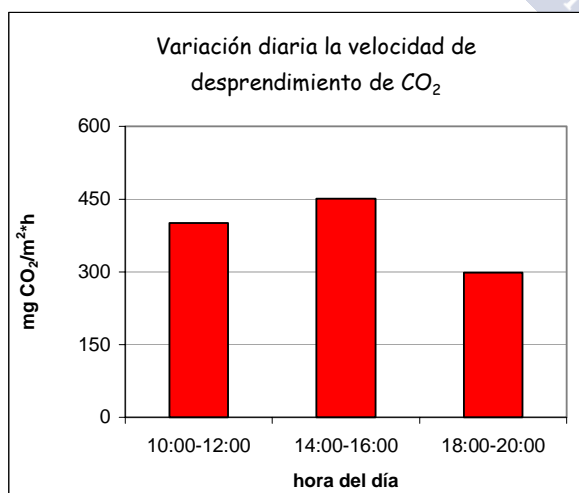


Gráfico C11

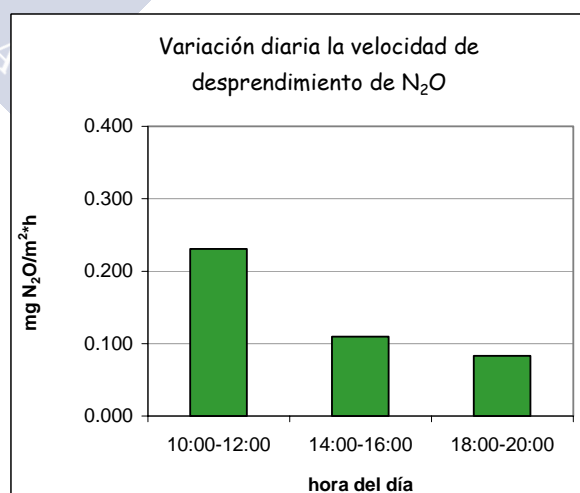


Gráfico C12.

**Gráficas C11 y C12: Velocidades de emisión de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  a lo largo de 1 día. Para realizar cada una de las medidas, se instala durante 2 horas la cámara de muestreo sobre el suelo. En los períodos de tiempo "intermedidas", se retira dicha cámara.**

## VI.7.5.c.- COMPARACIÓN ENTRE SUELOS CON/SIN FERTILIZAR.-

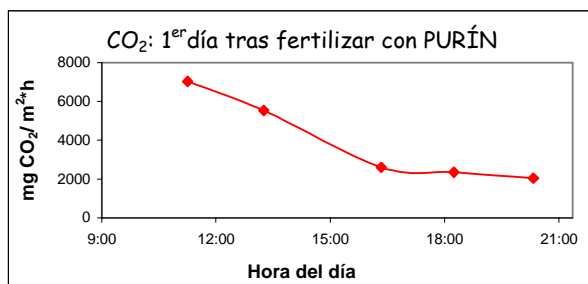


Gráfico C13

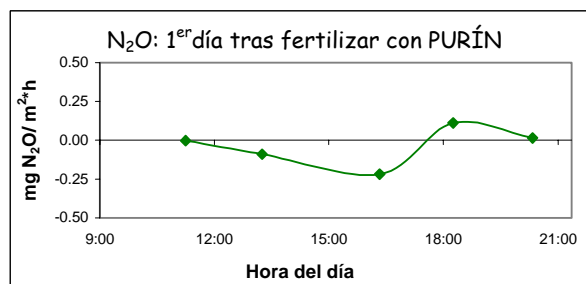


Gráfico C16

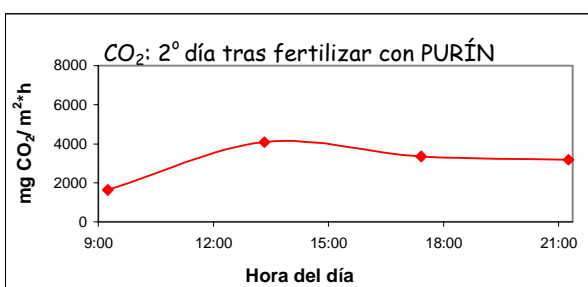


Gráfico C14

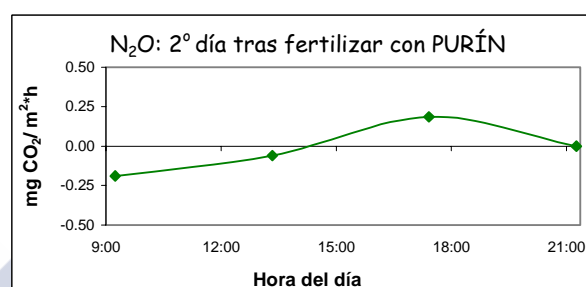


Gráfico C17

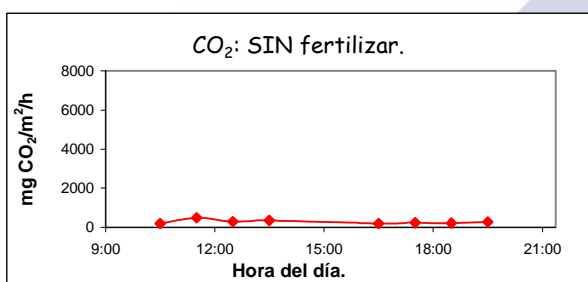


Gráfico C15

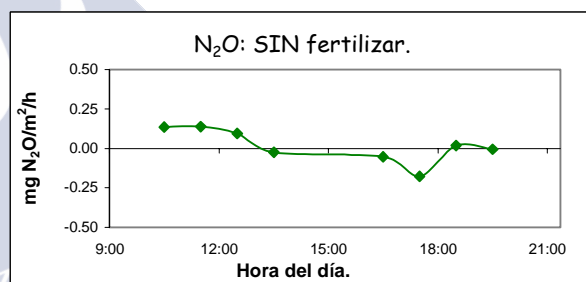


Gráfico C18

**Gráficas C13-C18: Comparación de las emisiones de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O desde suelos: sin fertilizar (C15 y C18), el primer día tras la adición de purín (C14 y C17) y el segundo tras la adición de purín (C13 y C14).**

Mientras la emisión de óxido nitroso no se ve alterada por la fertilización, los valores de dióxido de carbono desprendido, llegan a multiplicarse por 15 durante el primer día que sucede a la adición de 1500 mL de purín al suelo del anillo de PVC (dosis de purín: 189873,4 L/Ha). El segundo día tras la fertilización todavía se producen emisiones de CO<sub>2</sub> 10 veces mayores que en el suelo no fertilizado.

## **VI.8.- Estudio “in situ” de la posible influencia del cambio climático global sobre la emisión de gases invernadero.-**

### **VI.8.1. Objetivo:**

Se pretende estudiar en qué medida el cambio climático global, a través de un aumento de la temperatura, modificará la emisión de gases invernadero. Para conseguirlo, la tarea inmediata es conocer la dinámica anual de desprendimiento de dichos gases, para ver cómo ésta se verá afectada por un aumento de temperatura.

### **VI.8.2. Localización:**

Las medidas se han llevado a cabo desde noviembre de 1997 hasta diciembre de 1999, sobre suelos pertenecientes a zonas donde se dan los tres climas representativos de Galicia:



**Figura C5: Galicia en el mundo.**

- a) *Alta montaña.*- Temperatura media anual inferior a 8 °C y un déficit absoluto anual de precipitación muy pequeño, lo que se representa menos de 45 días de sequía al año. Se ha elegido la parroquia de Rao (municipio de Navia de Suarna, en Os Ancares, provincia de Lugo) con una altitud de 880 m, como representativa de este caso. Las coordenadas de localización son: 3° 10' 45'' W 42° 57' 10'' N, para la hoja 99 (Becerreá) del Mapa Topográfico Nacional de España, escala 1:50000, en la cual se encuentra dicho punto geográfico.

- b) *Zona central de Galicia*.- Temperatura media anual entre 8 y 12 °C y con un déficit de precipitación que supone entre 45 y 90 días de sequía anuales. Como representante, se ha elegido el municipio de Sobrado dos Monxes municipio situado a 70 Km de Santiago de Compostela, en la provincia de A Coruña, a una altitud de 505 m. Sus coordenadas de localización son: 8° 01' 00'' W 43° 02' 45'' N; en la hoja 71-IV (Las Cruces) del Mapa Topográfico Nacional de España escala 1:25000, en la cual se sitúa dicho punto geográfico
- c) *Sector litoral de las Rías Baixas y valle del Sil*.- Temperatura media anual superior a 12°C y con más de 90 días al año de déficit absoluto de precipitación. En este caso fue el lugar de Gándara, del municipio de Ponteareas situado a 20 Km de Vigo (provincia de Pontevedra) el escogido como representante. Su altitud es de 20 m, correspondiendo a tal lugar las coordenadas 8° 31' 10'' W 42° 10' 55'' N, tomadas éstas en la hoja 223-IV (Mos) del Mapa Topográfico Nacional de España, escala 1:25000.



**Figura C6: Localización geográfica de Sobrado, Rao y Ponteareas. Lugares elegidos como representativos de los diferentes climas de Galicia.**

En las tres zonas señaladas se seleccionan sendas áreas sobre idéntica posición topográfica (fondo de valle) y soportando la misma vegetación (prado natural), que serán los suelos objeto del estudio.

### VI.8.3. Diseño de la experiencia:

#### MONTAJE:

En el mes de julio de 1997 recogieron cuidadosamente, mediante anillos de PVC, monolitos de suelo no disturbado (32 cm de diámetro x 30 cm de alto), de Navia y Sobrado (correspondientes a las zona definidas como *alta montaña* y *central* respectivamente).

Los suelos así recogidos se trasladaron desde las zonas más frías a las más cálidas, del siguiente modo:

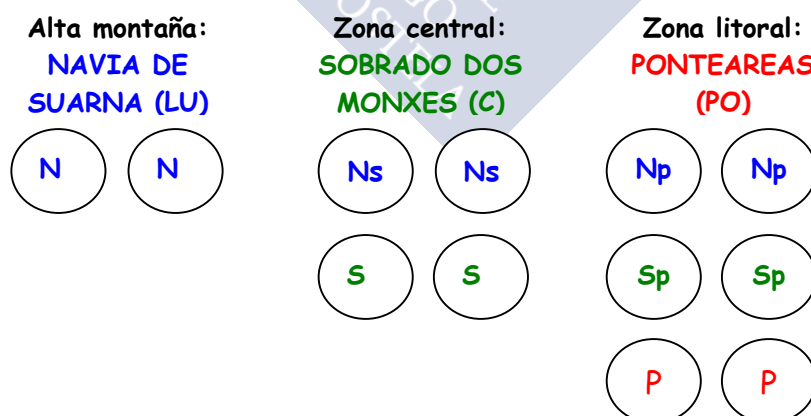
Dos monolitos de suelo de Navia a Sobrado.

Dos monolitos de suelo de Sobrado y otro dos de Navia a Ponteareas

Los suelos dentro de los anillos, fueron otra vez enterrados en su nueva localización.

Además, en cada uno de los lugares de estudio, se mantuvieron controles del suelo de la zona, que fueron tratados de la misma manera que los suelos trasladados (es decir, extraídos en el anillo y enterrados de nuevo hasta el nivel del suelo) y que han sido utilizados para conocer las dinámicas anuales de emisión de gases en su zona originaria.

Este diseño factorial (fig. C5) permite estudiar el efecto de dos niveles de variaciones climáticas: suave (*alta montaña*  $\Rightarrow$  *central* y *central*  $\Rightarrow$  *litoral*) e intensa (*alta montaña*  $\Rightarrow$  *litoral*), sobre la emisión de gases invernadero y frente a sus respectivos controles.



**P** = Suelo de Ponteareas en Ponteareas.

**S** = Suelo de Sobrado en Sobrado. **Sp** = Suelo de Sobrado en Ponteareas.

**N** = Suelo de Navia en Navia. **Ns** = Suelo de Navia en Sobrado. **Np** = Suelo de Navia en Ponteareas.

**Figura C7: Diseño del estudio "in situ" de la influencia del cambio climático sobre la emisión de gases.**





Figura C8: MUESTREO en NAVIA. Monolitos de suelo de Navia, antes y después de colocar las cámaras para la toma de muestras de gases.



Figura C9: MUESTREO en SOBRADO. Monolitos de suelo de Navia y Sobrado, antes y después de colocar las cámaras para la toma de muestras de gases.

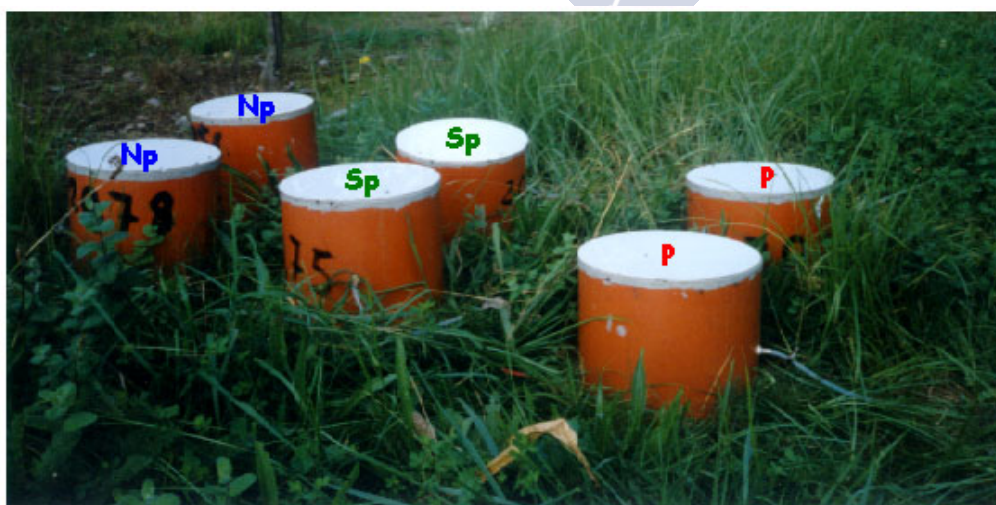


Figura C10: MUESTREO en PONTEAREAS. Monolitos de suelo de Navia, Sobrado y Ponteareas durante la toma de muestras de gases.

## **ANÁLISIS MENSUALES:**

Una vez concluido el montaje, los suelos se dejaron estabilizar un período de cuatro meses antes de iniciar los análisis. Transcurrido este tiempo, se procede a realizar mensualmente la toma de muestras de los gases invernadero emitidos, que son atrapados mediante el método de la cámara estática dispuesta sobre el suelo y cuantificados por análisis cromatográfico (GC-MS).

Cada mes, se viaja a cada uno de los lugares de estudio donde fueron instalado los monolitos de los suelos objeto del estudio. Una vez allí, y después de cortar la posible vegetación que haya crecido dentro de los anillos de PVC, se procede a colocar las cámaras estáticas sobre ellos, y se toman muestras de gases a tiempo cero (blanco) y después de que la cámara haya permanecido colocada durante un tiempo constante (dos horas). La extracción de las muestras se realiza todas las veces por duplicado. Se ha procurado, en la medida de lo posible, que todos los muestreos coincidan con las horas próximas a las 12 del mediodía.

Además, y también de manera mensual, se registraron los datos de Eh, pH y temperatura de los suelos, a la profundidad de 0,5 cm, así como el contenido de humedad de cada uno de los mismos.

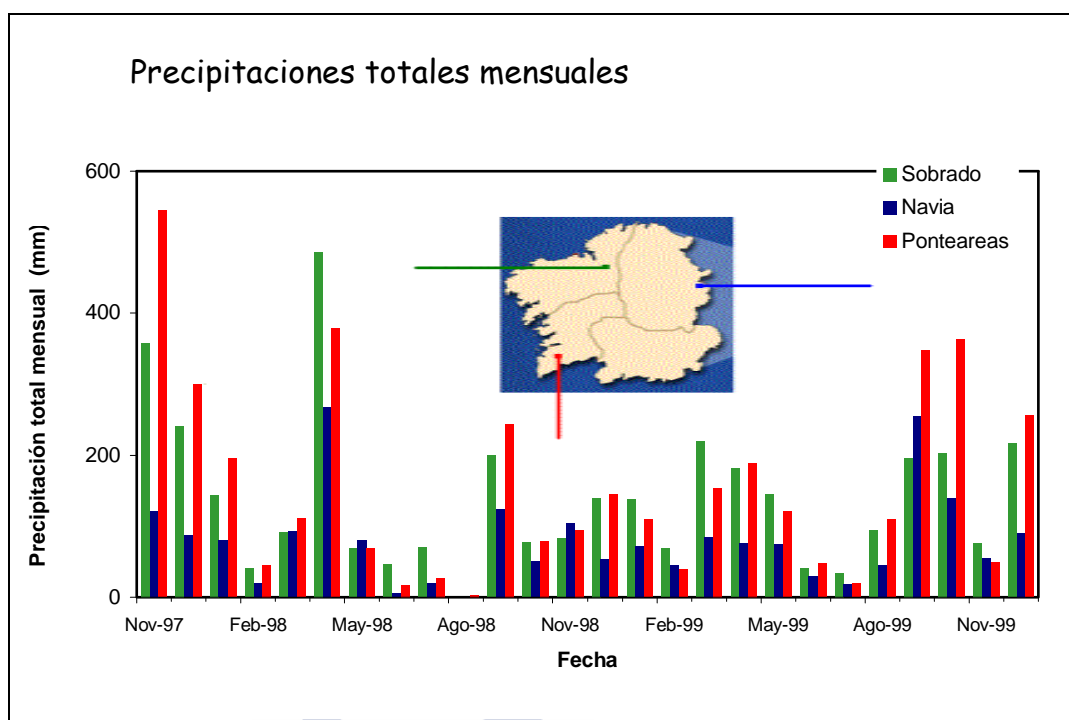
### **VI.8.4. Cálculos:**

Una vez conocidas las concentraciones de los analitos en las muestras se calcula la velocidad de desprendimiento de cada uno de los analitos siguiendo lo descrito en el apartado VI.6.5.

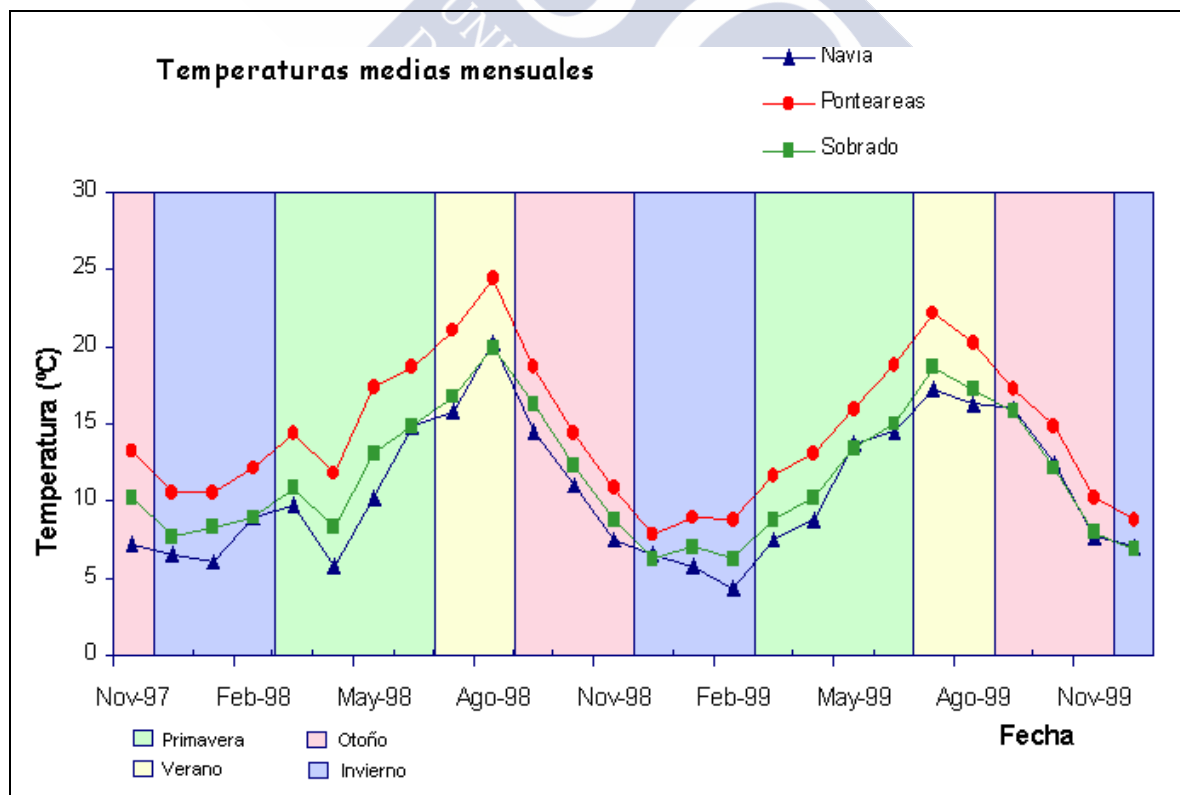
### **VI.8.5- Resultados y discusión.-**

#### **VI.8.5.1.- ESTUDIO ESTADÍSTICO DEL CLIMA.-**

Según la información del Banco de Datos del Centro Meteorológico de Galicia, se han construido las siguientes gráficas para las temperaturas medias y las precipitaciones totales mensuales, en los lugares de muestreo durante el período del estudio.



**Gráfica C19: Precipitaciones totales mensuales en Sobrado, Navia y Pontareas durante el estudio.**



**Gráfica C20: Temperaturas medias mensuales en Sobrado, Navia y Pontareas durante el estudio.**



Debido a que en Galicia no se diferencian las cuatro estaciones del año, tal y como se definen teóricamente, se han tratado de definir unas estaciones, en función de los datos de temperaturas. En la gráfica C20 se pueden diferenciar con los distintos colores de fondo.

Estos datos se han estudiado estadísticamente, mediante la aplicación del “test T para muestras relacionadas”. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla:

Prueba de muestras relacionadas

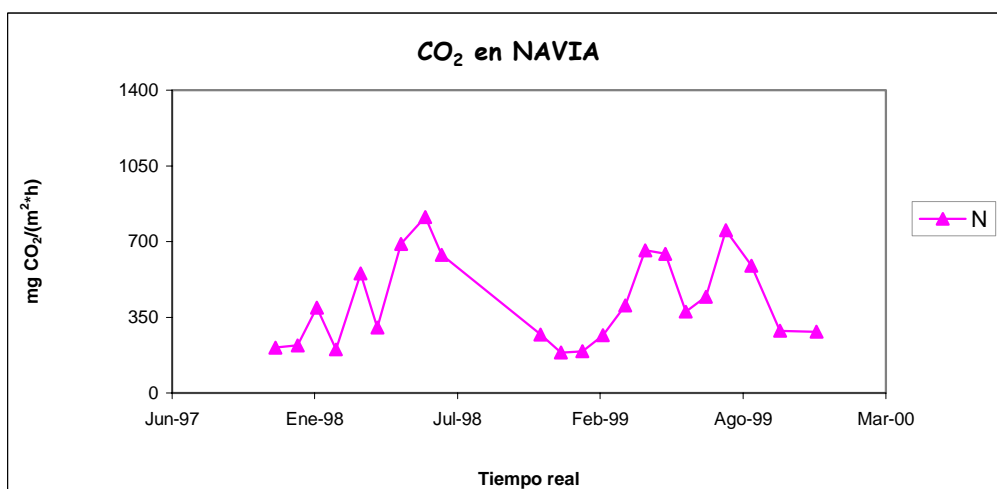
		Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	Intervalo de confianza para la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	PN - PS	-60.2308	69.5682	13.6434	-88.3300	-32.1316	-4.415	25	.000
Par 2	PN - PP	-75.5115	97.3105	19.0842	-114.8161	-36.2070	-3.957	25	.001
Par 3	PP - PS	15.2808	66.0456	12.9526	-11.3956	41.9572	1.180	25	.249
Par 4	TN - TS	-.9885	1.0077	.1976	-1.3955	-.5814	-5.002	25	.000
Par 5	TN - TP	-3.8654	1.4229	.2791	-4.4401	-3.2906	-13.851	25	.000
Par 6	TP - TS	2.8769	.8425	.1652	2.5366	3.2172	17.411	25	.000

Tabla C1: Test de la diferencia de medias para los datos climáticos.

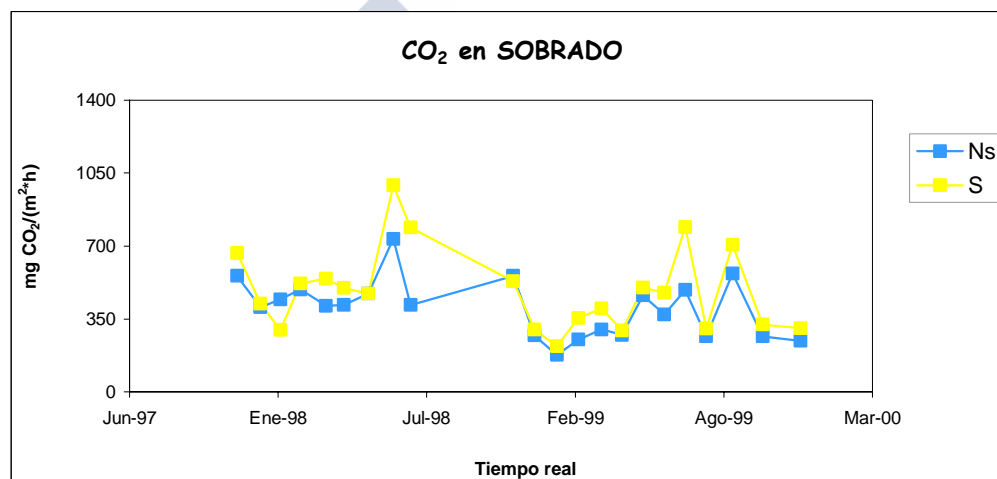
Las temperaturas medias mensuales son significativamente diferentes para todos los pares estudiados: Navia-Sobrado (TN-TS), Navia-Ponteareas (TN-TP) y Ponteareas-Sobrado (TP-TS). La probabilidad de la prueba T para todos ellos es menor que 0,05. Sin embargo, solamente existen diferencias significativas para las precipitaciones mensuales de los pares: Navia-Sobrado (PN-PS) y Navia-Ponteareas (PN-PP), ya que para el par Ponteareas-Sobrado (PP-PS), el intervalo confidencial incluye el valor 0 y la probabilidad es mayor que 0,05 (señalado en amarillo en la tabla).

#### VI.8.5.2.- RESULTADOS DE EMISIÓN DE GASES EN CADA UNO DE LOS PUNTOS DE MUESTREO.-

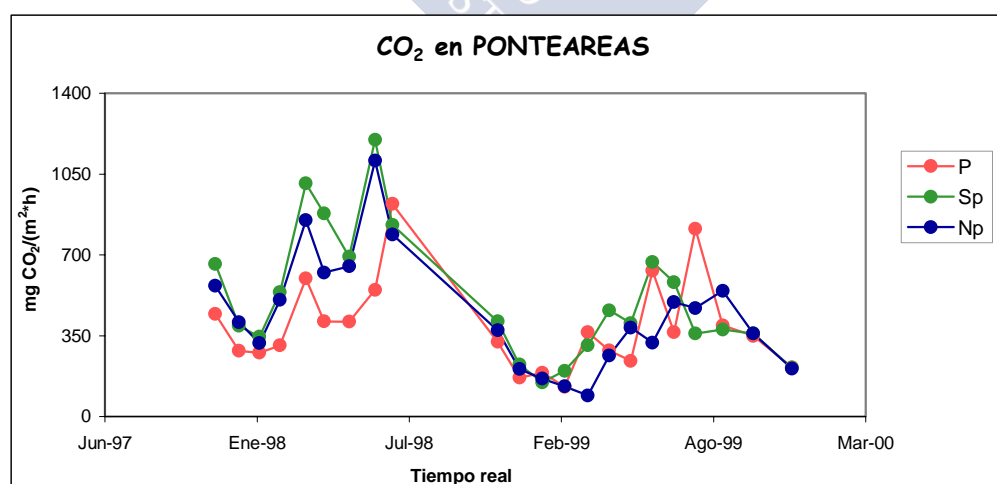
En las siguientes gráficas se puede visualizar la información obtenida sobre las velocidades de emisión de N<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub> desde el suelo, en cada uno de los puntos de muestreo, bien sea el suelo propio del lugar o el trasladado.



GráficaC21.



GráficaC22.



GráficaC23.

Gráfica C21: CO<sub>2</sub> emitido desde el suelo de Navia en Navia. Gráfica C22: CO<sub>2</sub> emitido desde el suelo de Navia y Sobrado en Sobrado. Gráfica C23: CO<sub>2</sub> emitido desde el suelo de Navia, Sobrado y Ponteareas en Ponteareas.

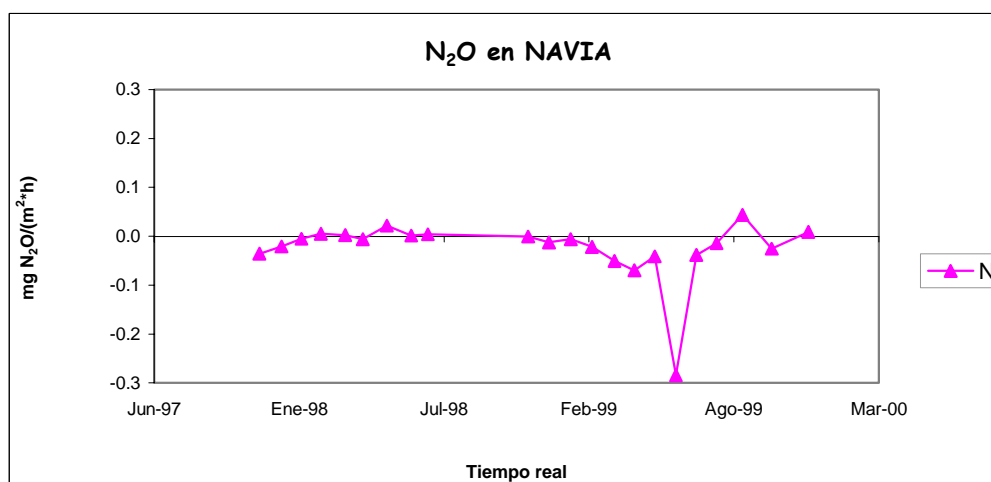


Gráfico C24

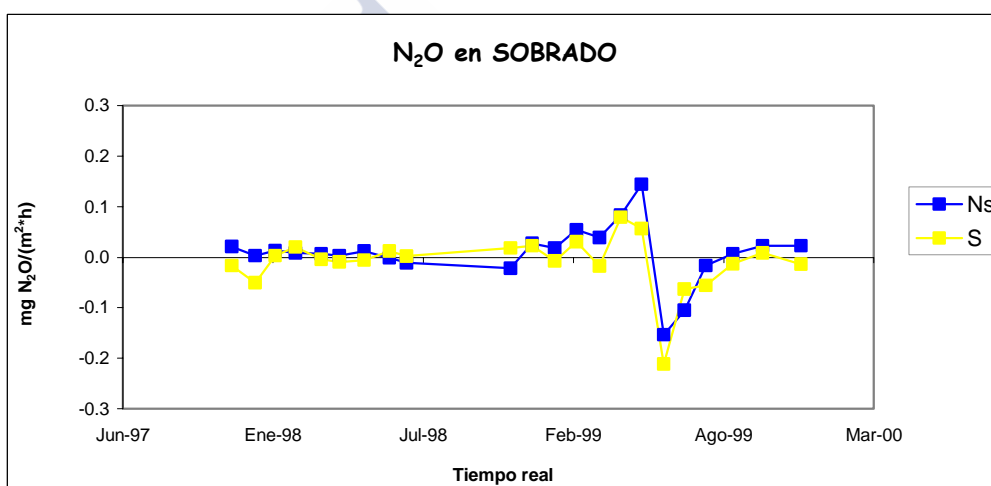


Gráfico C25

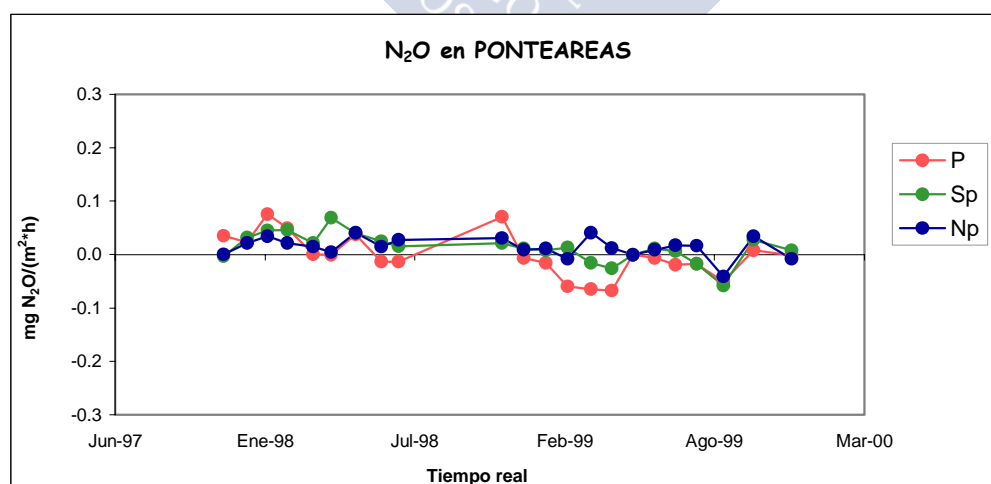
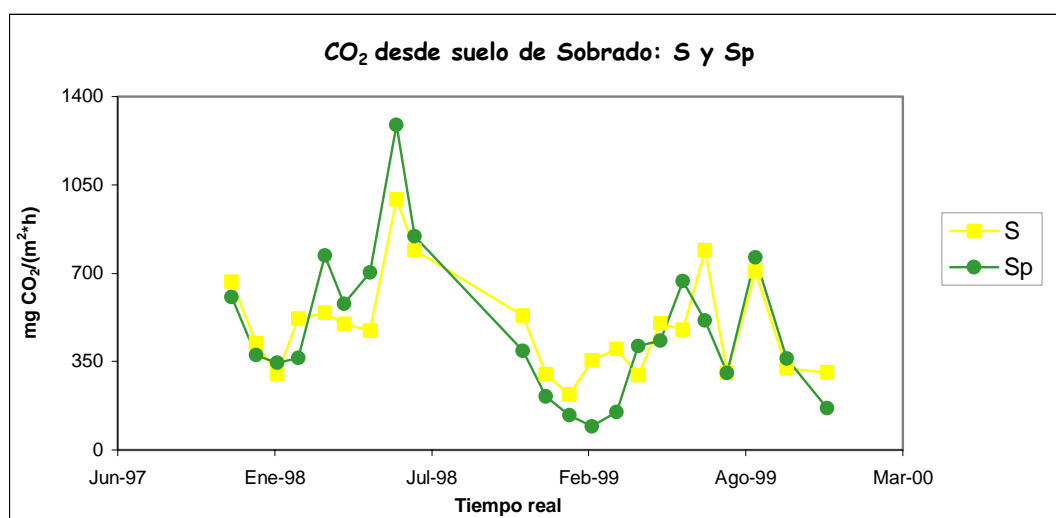


Gráfico C26

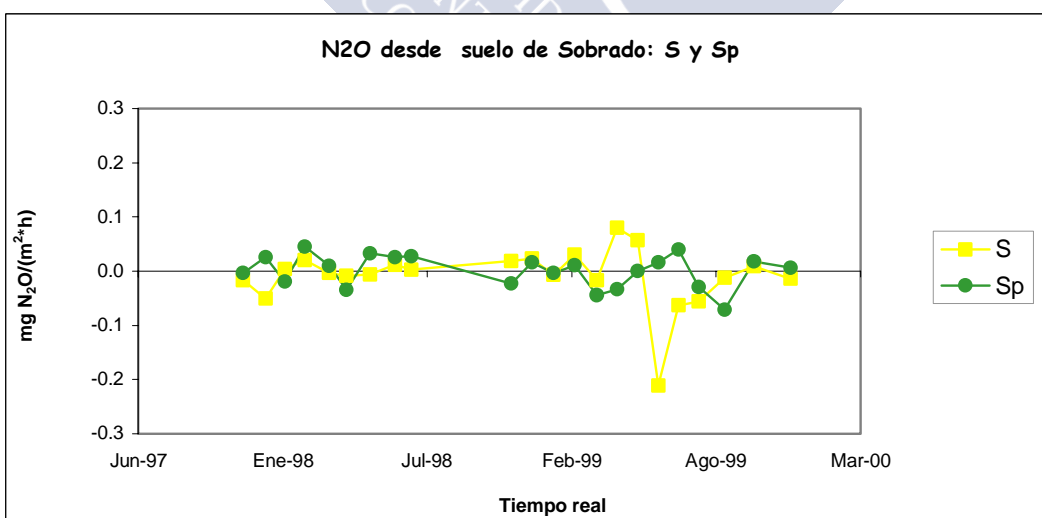
Gráfica C24: N<sub>2</sub>O emitido desde el suelo de Navia en Navia. Gráfica C25: N<sub>2</sub>O emitido desde el suelo de Navia y Sobrado en Sobrado. Gráfica C26: N<sub>2</sub>O emitido desde el suelo de Navia, Sobrado y Pontearreas en Pontearreas.

### VI.8.5.3.- COMPARACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL SUELO DE SOBRADO, EN SU LUGAR DE ORIGEN Y TRASLADADO.-

Se trata de comparar la emisión de gases a partir del suelo de Sobrado en Sobrado y del Suelo de Sobrado en Ponteareas. Las gráficas C27 y C28 muestran las velocidades de emisión de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  durante el período estudiado.



Gráfica C27



Gráfica C28

Gráficas C27 y C28: Velocidades de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  emitido desde el suelo Sobrado, en Sobrado y trasladado a Ponteareas.

En la gráfica C27 se puede observar una diferencia de comportamiento, entre el primero y el segundo año después del traslado del suelo. Durante el primer año, la velocidad de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  es mayor en el suelo Sobrado cuando éste se encuentra trasladado a Pontearreas (al menos durante los meses de temperaturas mayores, la línea correspondiente a Sp se encuentra por encima de la de S). Sin embargo, parece que durante la segunda mitad del estudio, el comportamiento de los suelos tiende a hacerse similar (se entremezclan las dos líneas de la gráfica).

En la gráfica C28, correspondiente a las velocidades de  $\text{N}_2\text{O}$ , no se observa tan claramente la diferencia entre los dos años estudiados. Las dos líneas se entremezclan bastante durante todo el estudio, si bien es verdad, que es durante el primer año cuando la velocidad de emisión en Pontearreas supera un mayor número de veces a la de Sobrado (existen más puntos de Sp por encima, en la primera mitad de la gráfica).

Se ha tratado de relacionar estadísticamente, la emisión de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$ , con las condiciones climáticas a que estaban sometidos los suelos en el momento de realizar los muestreos. Para ello, los datos obtenidos de velocidad de emisión, se han considerado como *variable criterio*, y se han tomado como *variables predictorias*: la precipitación y la temperatura ambiente media del día en que se muestrea, la temperatura del suelo y la humedad del suelo en el momento de la toma de muestra, así como las posibles combinaciones de éstas para obtener ecuaciones polinómicas de grado 2. Se ha tratado de analizar la importancia y significación de cada una de las variables predictorias.

Mediante la utilización del programa estadístico SPSS se hace un primer intento para conocer el grado de asociación de las distintas variables en cada caso, tal y como se había hecho en el caso de las experiencias de laboratorio (ver apartado V.9.5 de la presente memoria). Se efectúan las regresiones múltiples lineales, de manera que el programa va incorporando las distintas variables independientes según su grado de asociación con la variable dependiente (elegir: “regresión hacia delante”). De esta manera se tiene una idea acerca del orden de influencia de las distintas variables sobre la emisión de gases y cuál de ellas es la que más influye en cada caso.

VI.8.5.3.a.- RESULTADOS PARA LAS VELOCIDADES DE EMISIÓN DEL CO<sub>2</sub>:

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.610 <sup>a</sup>	.372	.357	194.8195
2	.687 <sup>b</sup>	.472	.447	180.7522

a. Variables predictoras: (Constante), T

b. Variables predictoras: (Constante), T, TH

VARIABLE DEPENDIENTE: mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>\*hVARIABLES EXCLUIDAS: Temperatura ambiente, Precipitaciones, H, H<sup>2</sup> y T<sup>2</sup>.

**Nota:** Las abreviaturas T y H corresponden a los parámetros del suelo, **T=temperatura del suelo** y **H=humedad del suelo**. Para los parámetros climáticos no se han utilizado abreviaturas en este caso.

**Tabla C2: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante". Variable dependiente: velocidad de emisión del CO<sub>2</sub> para el suelo de Sobrado, en su lugar de origen y trasladado a Pontearreas.**

De acuerdo con los resultados, no existe una asociación significativa entre la emisión de CO<sub>2</sub> y los parámetros climáticos ambientales. Por otra parte, es lógico que el desprendimiento de gases dependa de las condiciones del suelo y no de los parámetros climáticos ambientales, pues la temperatura y humedad que tenga el suelo en ese momento, no son consecuencia únicamente del clima del día de muestreo, sino que también se ven afectadas por la temperatura ambiente y las precipitaciones de los días anteriores.

Con el fin de conocer si existen diferencias significativas entre los datos de temperatura y humedad del suelo de Sobrado, en su lugar de origen y trasladado, se ha aplicado el test estadístico T para muestras relacionadas ("test de la media de las diferencias"). Los pares corresponden a las medidas realizadas en el mismo muestreo en las dos localizaciones. La probabilidad de la prueba T para los datos de temperatura del suelo es 0,000 (<0,05), por lo que se puede concluir que existen diferencias significativas entre la temperatura del suelo de Sobrado en su lugar de origen y trasladado. No ocurre lo mismo con la humedad, la probabilidad de la prueba T es 0,614 (>0,05), lo que quiere decir que, no existen diferencias significativas entre los pares estudiados.

Según los resultados resumidos en la tabla C2, la velocidad de emisión de CO<sub>2</sub> depende de una manera significativa de la temperatura del suelo (T) y del producto temperatura del suelo\*humedad del suelo (TH). Si revisamos los modelos, considerados de elección, para la emisión de dióxido de carbono en las experiencias de laboratorio (Ver Tabla L11), comprobamos que al menos en uno de ellos también aparecían como variables predictorias T y TH. Los dos modelos elegidos eran los siguientes:

$$1) \text{ CO}_2 \text{ liberado} = z + a\text{TH} + b\text{H}^2 + e\text{T}$$

$$2) \text{ CO}_2 \text{ liberado} = z + c\text{T}^2 + d\text{H} + e\text{T}$$

Es conveniente recordar que en aquel momento del estudio se consideraba como variable dependiente los mg CO<sub>2</sub> acumulado hasta ese momento de la incubación. Si bien es verdad que debe existir una relación directa entre el dióxido de carbono acumulado y su velocidad de emisión. En base a esto, se ha decidido realizar las regresiones con estos dos modelos para los resultados de velocidades de emisión de las experiencias de campo. Los resultados se muestran a continuación:

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.691 <sup>a</sup>	.478	.439	182.0106

a. Variables predictorias: (Constante), T, TH, H<sup>2</sup>

Tabla C3.

VARIABLE DEPENDIENTE: mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>\*h

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.678 <sup>a</sup>	.460	.419	185.1646

a. Variables predictorias: (Constante), T<sup>2</sup>, H, T

Tabla C4.

VARIABLE DEPENDIENTE: mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>\*h

**Tablas C3 y C4: Resultados de las regresiones aplicando los modelos de las experiencias de laboratorio. La variable dependiente es la emisión de CO<sub>2</sub> para el suelo de Sobrado (tanto en su lugar de origen como trasladado).**

**Nota:** Las abreviaturas T y H corresponden a los parámetros del suelo, **T=temperatura del suelo** y **H=humedad del suelo**. Para los parámetros climáticos se han utilizado abreviaturas en este caso.

Se ha elegido el primero de los modelos, por conseguir un coeficiente de determinación más próximo a 1 y por concordancia con la regresión del SPSS “hacia delante”. Dicho modelo se ha aplicado, por un lado, a las velocidades de emisión de CO<sub>2</sub> obtenidas para el suelo de Sobrado en su lugar de origen, y por otro, a las obtenidas en el mismo suelo pero trasladado a Ponteareas. Se pretende con ello, conocer las diferencias de comportamiento en los distintos lugares, aún siguiendo el mismo modelo polinómico. Es importante comparar la forma de las gráficas C29, C30 y C31 donde están representadas estas regresiones, así como la diferencia entre los coeficientes de los tres modelos, que en definitiva son los que definirán las tendencias:

$$\text{Regresión: } \text{mg CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{h} = z + a\text{TH} + b\text{H}^2 + e\text{T}$$

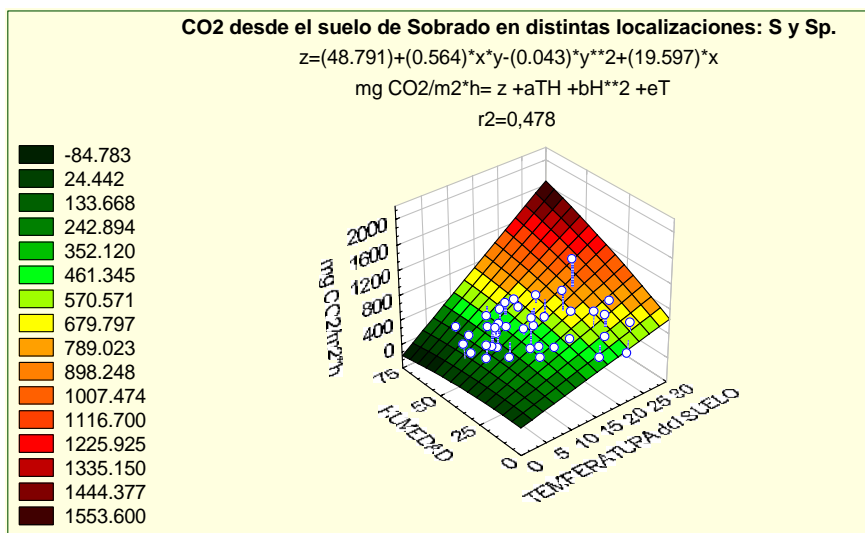
SUELO	a	b	e	r <sup>2</sup>
S y Sp	0,564	-0,043	19,597	0,478
S	0,564	-0,063	14,845	0,569
Sp	0,880	-0,072	26,331	0,608

**Tabla C5: Términos de la regresión  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2\cdot\text{h} = z + a\text{TH} + b\text{H}^2 + e\text{T}$ , aplicada: al suelo de Sobrado independientemente de la localización (S y Sp), al suelo de Sobrado en su lugar de origen (S), y al suelo de Sobrado trasladado a Ponteareas (Sp).**

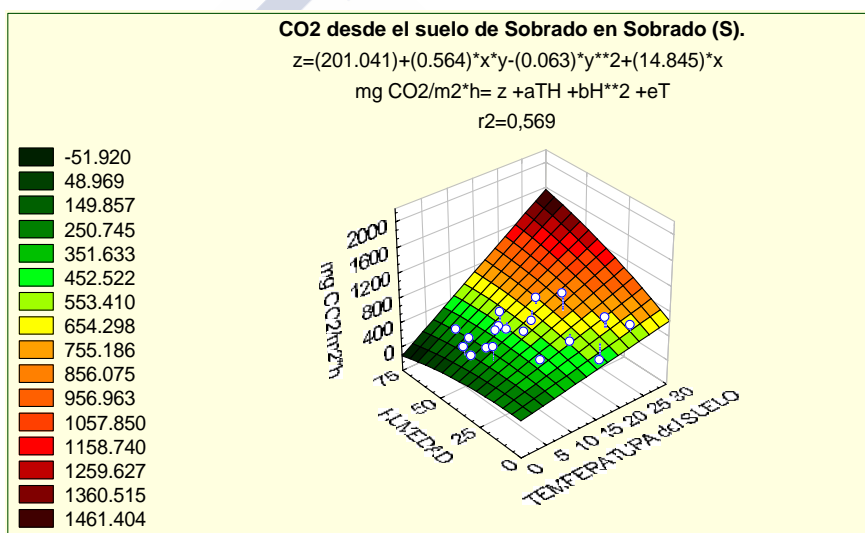
Mediante la comparación de los coeficientes (Tabla C5), se observa que al trasladar el suelo de Sobrado, aumenta la dependencia entre la variable criterio y las variables predictorias. Es decir, la velocidad de emisión del CO<sub>2</sub> para el suelo de Sobrado en Ponteareas, depende en mayor medida de T, H y TH. Sobre todo, se puede apreciar un aumento importante en el coeficiente de la temperatura del suelo, es decir, el mismo incremento de temperatura para el suelo en su lugar de origen (S) y el trasladado (Sp), se traduciría en un aumento de la velocidad de desprendimiento mayor para el suelo trasladado (Sp).

Además en el suelo de Sobrado en Ponteareas (Sp), la variable de interacción TH también va a tomar más relevancia. Así, cuando los valores de humedad son elevados, un incremento de temperatura provoque un aumento brusco en la velocidad de emisión de dióxido de carbono desde Sp. Si se comparan la forma de las gráficas C30 y C31, quedan patentes las diferencias.

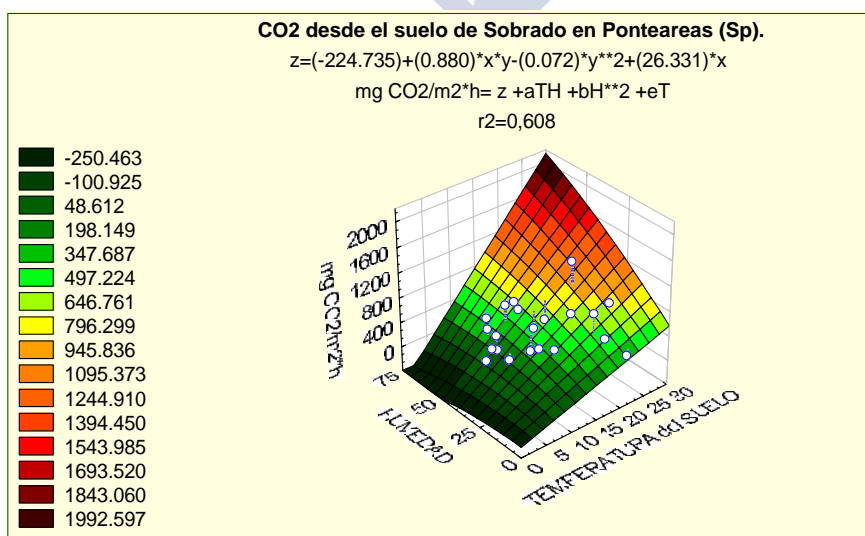




Gráficas C29: Suelo de Sobrado (S y Sp). Regresión:  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$



Gráficas C30: Suelo de Sobrado en Sobrado (S). Regresión:  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$



Gráficas C31: Suelo de Sobrado en Pontearas (P). Regresión:  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$

VI.8.5.3.b.- RESULTADOS PARA LAS VELOCIDADES DE EMISIÓN DEL N<sub>2</sub>O:

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.363 <sup>a</sup>	.132	.111	4.205E-02

a. Variables predictoras: (Constante), H

VARIABLE DEPENDIENTE: mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>\*hVARIABLES EXCLUIDAS: Temperatura ambiente, Precipitaciones, TH, H<sup>2</sup>, Ty T<sup>2</sup>.

**Nota:** Las abreviaturas T y H corresponden a los parámetros del suelo, **T=temperatura del suelo** y **H=humedad del suelo**. Para los parámetros climáticos no se han utilizado abreviaturas en este caso.

**Tabla C6: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante". Variable dependiente: velocidad de emisión del N<sub>2</sub>O para el suelo de Sobrado, en su lugar de origen y trasladado a Pontearreas.**

Tampoco en este caso, existe una asociación significativa entre la emisión de N<sub>2</sub>O y los parámetros climáticos ambientales. Pero además, para este gas, el estudio estadístico pone de manifiesto que solamente existe un grado de asociación significativo con la variable predictoría "humedad del suelo", y aún en este caso el coeficiente de determinación muy bajo ( $r^2=0,132$ ).

Si se comparan con los modelos de elección para las experiencias de laboratorio (Ver Tabla L10), lo que queda patente en cualquier caso, es que la emisión de este gas depende fundamentalmente de la humedad, a diferencia del CO<sub>2</sub> que se veía influenciado en mayor medida por la temperatura. Se han efectuado las regresiones para los datos de la velocidad de emisión de óxido nitroso en el suelo de Sobrado, siguiendo los modelos matemáticos de las experiencias de laboratorio:

$$1) \text{ N}_2\text{O liberado} = z + aTH + dH + eT$$

$$2) \text{ N}_2\text{O liberado} = z + aTH + bH^2 + dH$$

En las tablas C7 y C8, se pueden observar los resultados de dichas regresiones. El coeficiente de determinación, sigue teniendo valores bajísimos, muy diferentes de 1. Es por esto que, lo único que se puede concluir es que la única variable, de las estudiadas, que influye de manera significativa sobre la velocidad de emisión de N<sub>2</sub>O, es la humedad del

suelo. Si bien es cierto que  $r^2$  es 0,132, y por tanto sigue existiendo incertidumbre acerca de una gran parte de la variable criterio.

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.375 <sup>a</sup>	.140	.076	4.287E-02

a. Variables predictoras: (Constante), TH, T, H

Tabla C7

VARIABLE DEPENDIENTE: mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>\*h

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.372 <sup>a</sup>	.138	.073	4.293E-02

a. Variables predictoras: (Constante), H2, TH, H

Tabla C8

VARIABLE DEPENDIENTE: mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>\*h

**Tablas C7 y C8: Resultados de las regresiones aplicando los modelos de las experiencias de laboratorio. La variable dependiente es la emisión de N<sub>2</sub>O para el suelo de Sobrado (tanto en su lugar de origen como trasladado).**

**Nota:** Las abreviaturas T y H corresponden a los parámetros del suelo, **T=temperatura del suelo** y **H=humedad del suelo**. Para los parámetros climáticos no se han utilizado abreviaturas en este caso.

La humedad del suelo no va a explicar suficientemente la velocidad de emisión de N<sub>2</sub>O. Lo que está claro, es que se trata de desprendimientos con valores muy bajos, próximos a cero, si bien en algunos momentos tienen signo positivo y otros negativo, por lo que el suelo se estaría comportando como fuente o sumidero de óxido nitroso, según el momento.

#### VI.8.5.4.- COMPARACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL SUELO DE NAVIA, EN SU LUGAR DE ORIGEN Y TRASLADADO.-

De manera similar al apartado anterior, se trata de comparar la emisión de gases a partir del suelo de Navia en Navia, de Navia en Sobrado y del suelo de Navia en Pontearreas. Las gráficas C32 y C33 muestran las velocidades de emisión de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  durante el período estudiado.

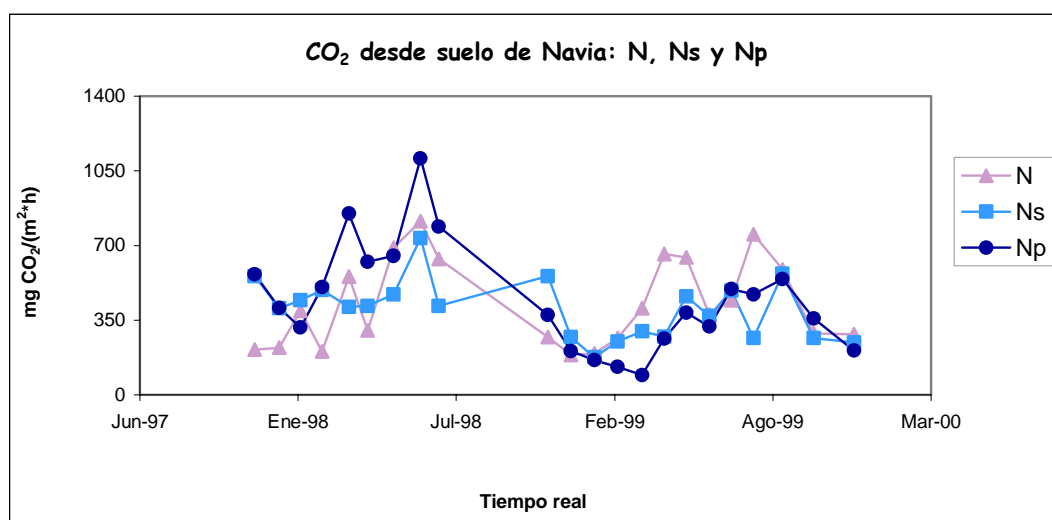


Gráfico C32

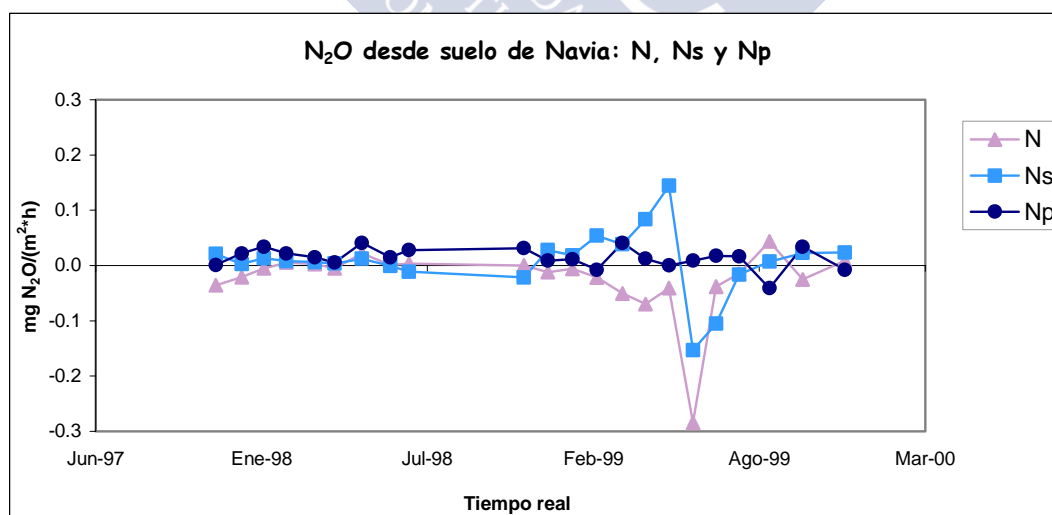


Gráfico C33

Gráficas C32 y C33: Velocidades de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  emitido desde el suelo de Navia, en Navia (N) y trasladado a Sobrado (Ns) y a Pontearreas (Np).

En la gráfica C32 vuelve a ponerse de manifiesto una diferencia de comportamiento, entre el primer y segundo año después del traslado del suelo. Durante el primer año, la velocidad de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  es mayor en el suelo Navia que se encuentra trasladado a Pontearreas, y las menores velocidades se dan en el suelo sin trasladar (los puntos correspondientes a Np están por encima en la mayor parte de los muestreos, y los valores más bajos pertenecen a N). Durante la segunda mitad del estudio, el comportamiento de los suelos cambia, llega incluso a ser mayor la velocidad de  $\text{CO}_2$  en el suelo de Navia sin trasladar, que en el resto (la señal de N está por encima en muchos puntos de la segunda parte de la gráfica).

En la gráfica C33, correspondiente a las velocidades de  $\text{N}_2\text{O}$ , no se observa la diferencia entre los dos años estudiados. Las líneas se entremezclan bastante durante todo el estudio. Se trata de valores muy próximos a cero, a veces con signo positivo y otras negativo, es decir, existen pequeños desprendimientos y pequeños consumos de óxido nitroso de los cuales son responsables los microorganismos del suelo.

De la misma manera que en el caso anterior, se ha tratado de relacionar estadísticamente, la emisión de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$ , con las condiciones climáticas a que estaban sometidos los suelos en el momento de realizar los muestreos. Nuevamente, los datos obtenidos de velocidad de emisión, se han considerado como *variable criterio*, y se han tomado como *variables predictorias*: la precipitación y la temperatura ambiente media del día en que se muestrea, la temperatura del suelo y la humedad del suelo en el momento de la toma de muestra, así como las posibles combinaciones de éstas para obtener ecuaciones polinómicas de grado 2. Mediante la opción del SPSS “hacia delante”, se ha tratado de analizar la importancia y significación de cada una de las variables predictorias.

#### VI.8.5.4.a.- RESULTADOS PARA LAS VELOCIDADES DE EMISIÓN DEL $\text{CO}_2$ :

En la tabla C9 se pueden observar los resultados obtenidos, de acuerdo con los cuales, vuelve a ponerse de manifiesto que no existe una asociación significativa entre la emisión de  $\text{CO}_2$  y los parámetros climáticos ambientales, aunque de nuevo vuelven a ser T (temperatura del suelo) y TH (temperatura del suelo\*humedad), las dos variables que explican en mayor medida la variable criterio. Sin embargo en este caso, se asocia también de manera significativa con la variable predictorica H (humedad del suelo).

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.562 <sup>a</sup>	.316	.305	176.4275
2	.597 <sup>b</sup>	.357	.336	172.3952
3	.638 <sup>c</sup>	.407	.378	166.9107

a. Variables predictoras: (Constante), T

b. Variables predictoras: (Constante), T, TH

c. Variables predictoras: (Constante), T, TH, H

VARIABLE DEPENDIENTE: mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>\*hVARIABLES EXCLUIDAS: Temperatura ambiente, Precipitaciones, H, H<sup>2</sup> y T<sup>2</sup>.

**Nota:** Las abreviaturas T y H corresponden a los parámetros del suelo, **T=temperatura del suelo** y **H=humedad del suelo**. Para los parámetros climáticos no se han utilizado abreviaturas en este caso.

**Tabla C9: Datos del SPSS sobre la regresión múltiple "hacia delante". Variable dependiente: velocidad de emisión del CO<sub>2</sub> para el suelo de Navia, en su lugar de origen y trasladado a Sobrado y a Pontearreas.**

Con el fin de conocer si existen diferencias significativas entre los datos temperatura y humedad del suelo de Navia, en su lugar de origen y trasladado, se ha aplicado el test estadístico T para muestras relacionadas ("test de la media de las diferencias"). Los pares corresponden a las medidas realizadas en el mismo muestreo en las dos localizaciones. Para los pares correspondientes a la temperatura del suelo (N-Np) y (Ns-Np), la probabilidad de la prueba T es menor que 0,05 (0,001 y 0,000, respectivamente), por lo que se puede concluir que existen diferencias significativas entre ellos. No ocurre lo mismo con los pares de temperaturas (N-Ns), la probabilidad de la prueba T es 0,242 (>0,05), lo que quiere decir que, no existen diferencias significativas entre la temperatura del suelo de Navia en su lugar de origen y el trasladado a Sobrado. Para los pares correspondientes a la humedad del suelo, los resultados indican que solamente existen diferencias significativas entre los pares (Ns-Np) donde la probabilidad de T es 0,041 (<0,05), ya que para los otros casos la probabilidad es mayor que 0,05 (0,384 y 0,413 para los pares de humedad N-Np y N-Ns respectivamente).

Igual que cuando estudiamos el suelo de Sobrado, tratamos de aplicar los modelos obtenidos tras las experiencias de laboratorio:

$$1) \text{ CO}_2 \text{ liberado} = z + a\mathbf{TH} + b\mathbf{H}^2 + e\mathbf{T}$$

$$2) \text{ CO}_2 \text{ liberado} = z + c\mathbf{T}^2 + d\mathbf{H} + e\mathbf{T}$$

En las tablas C10 y C11 se pueden observar los coeficientes de determinación obtenidos. Se puede apreciar, cómo al sustituir el término H (que se obtenía mediante el test SPSS “hacia delante”) por  $H^2$  la asociación sigue siendo significativa y solamente hace que descienda  $r^2$  una milésima (Tabla C9). Por tanto, éste vuelve a ser el modelo de elección para explicar la velocidad de emisión del  $N_2O$  desde el suelo de Navia (en su lugar de origen y trasladado).

**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.637 <sup>a</sup>	.406	.377	167.0416

a. Variables predictoras: (Constante),  $H^2$ , T, TH

VARIABLE DEPENDIENTE:  $mg\ CO_2/m^2 \cdot h$

**Tabla C10****Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.570 <sup>a</sup>	.325	.293	177.9880

a. Variables predictoras: (Constante), TS2, H, T

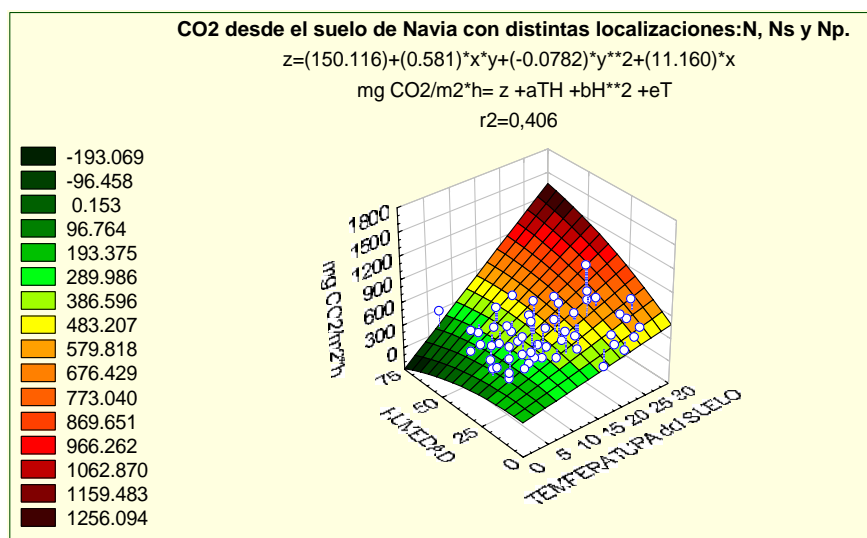
VARIABLE DEPENDIENTE:  $mg\ CO_2/m^2 \cdot h$

**Tabla C11**

**Tablas C10 y C11: Resultados de las regresiones aplicando los modelos de las experiencias de laboratorio. La variable dependiente es la emisión de  $CO_2$  para el suelo de Navia (tanto en su lugar de origen como trasladado).**

**Nota:** Las abreviaturas T y H corresponden a los parámetros del suelo, **T=temperatura del suelo** y **H=humedad del suelo**. Para los parámetros climáticos no se han utilizado abreviaturas en este caso.

El modelo de la tabla C10, se ha aplicado de manera independiente, a las velocidades de emisión de  $CO_2$  obtenidas para el suelo de Navia según los distintos lugares de ubicación. Se pretende nuevamente, conocer las diferencias de comportamiento en las diferentes localizaciones, aún siguiendo el mismo modelo matemático. Mientras la gráfica C34 corresponde a todos los datos de  $CO_2$  para el suelo de Navia (trasladado y no trasladado), las gráficas C35, C36 y C37 corresponden a cada uno de los lugares de ubicación. Han de observarse las distintas formas de las gráficas y sus diferentes coeficientes, que en definitiva son los que definirán las tendencias.



**Gráficas C34: Suelo de Navia en distintas localizaciones (N, Ns y Np).**

**Regresión:  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$**

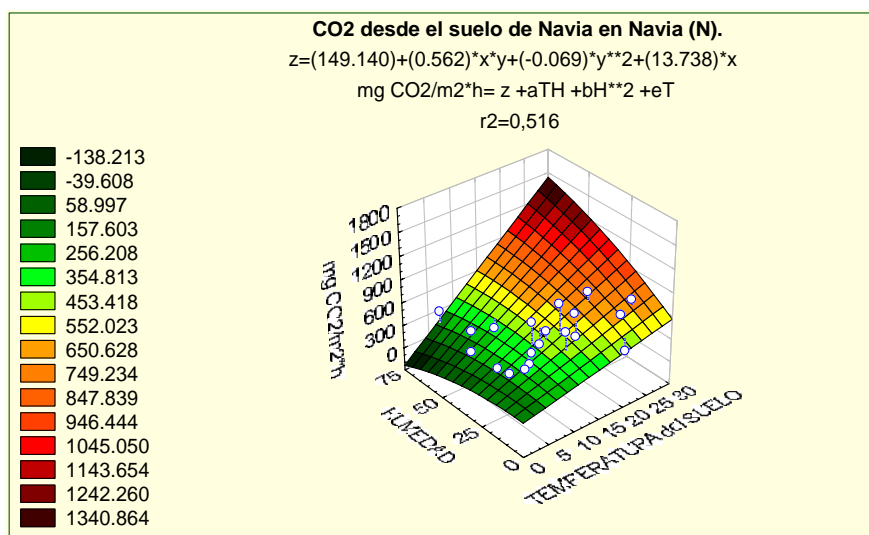
En la tabla siguiente se pueden observar los coeficientes para la aplicación de éste modelo de regresión al suelo de Navia:

**Regresión:  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$**

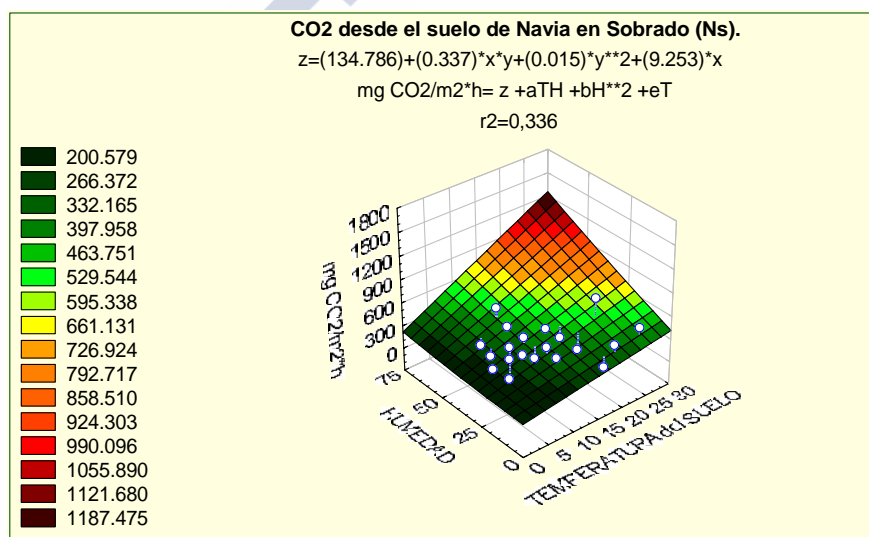
SUELO	a	b	e	r <sup>2</sup>
N, Ns y Np	0,581	-0.078	11,160	0,406
N	0,562	-0.069	13,738	0,516
Ns	0,337	0,015	9,253	0,336
Np	0,851	-0,179	9,695	0,441

**Tabla C12: Términos de la regresión  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$ , aplicada: al suelo de Navia independientemente de la localización (N, Ns y Np), al suelo de Navia en su lugar de origen (N), y al suelo de Navia trasladado, por un lado a Sobrado (Ns) y por otro, a Pontearreas (Np).**

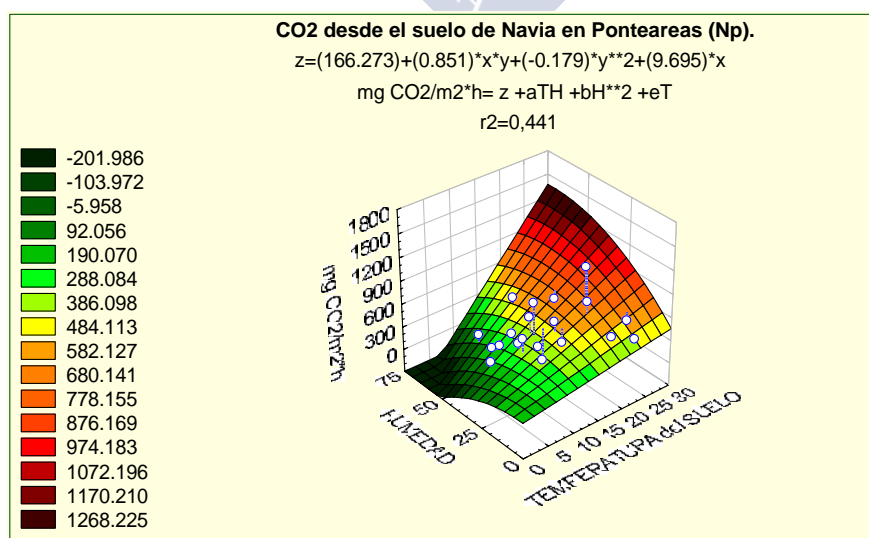




Gráficas C35: Suelo de Navia en Navia (N). Regresión:  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$



Gráficas C36: Suelo de Navia en Sobrado (Ns). Regresión:  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$



Gráficas C37: Suelo de Navia en Pontearas (Np). Regresión:  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{h} = z + aTH + bH^2 + eT$

De los datos de la tabla C12 y de las gráficas C35-C37, se puede deducir que, Sobrado es el único lugar donde el suelo de Navia (Ns), aumenta la velocidad de liberación de  $\text{CO}_2$  cuando se incrementa el nivel de humedad, aún a temperaturas bajas (el coeficiente de  $H^2$  es positivo). En Np y N, con porcentajes de humedad muy elevados y temperaturas bajas, no se produce liberación de  $\text{CO}_2$ .

Un incremento de temperatura cuando la humedad del suelo es baja, aumentaría en mayor medida la velocidad de emisión de  $\text{CO}_2$  del suelo de Navia cuando éste se encuentra en su lugar de origen (N posee el coeficiente del término T más elevado). Sin embargo, con valores de humedad intermedios y máximos, es el suelo de Navia en Ponteareas (Np), el que más incrementa su velocidad de desprendimiento de éste gas, al elevarse la temperatura (posee el coeficiente más alto para término TH).

Por tanto, se puede concluir que al trasladar el suelo de Navia a Ponteareas, éste se hace sensible a los cambios de temperatura (los porcentajes de humedad en Ponteareas nunca son bajos). Sin embargo no ocurre lo mismo al trasladarlo a Sobrado, no parece que en este caso la velocidad de emisión de  $\text{CO}_2$  se haga más dependiente de la temperatura. Si bien es conveniente recordar en este momento, que las diferencias entre los pares de temperatura del suelo N-Ns (Navia en Navia-Navia en Sobrado) no eran significativas de acuerdo con el test T para muestras relacionadas.

#### VI.8.5.4.b.- RESULTADOS PARA LAS VELOCIDADES DE EMISIÓN DEL $\text{N}_2\text{O}$ :

Mediante el programa estadístico SPSS, se ha realizado la regresión “hacia delante”, de la misma manera que en los apartados anteriores. Sin embargo, en este caso, los resultados indican que no existe asociación significativa alguna, entre la variable criterio (velocidad de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$ ) y las variables predictorias estudiadas. Es decir, ni los parámetros climáticos ambientales, ni los datos de temperatura y humedad del suelo, ni las posibles combinaciones de éstos para obtener ecuaciones de 2º grado, pueden explicar en algún modo las velocidades de emisión de éste gas desde el suelo de Navia (ya sea en su lugar de origen o trasladado).

De todas formas se han efectuado las regresiones para los datos de la velocidad de emisión de óxido nitroso en el suelo de Navia, siguiendo los modelos matemáticos de las experiencias de laboratorio:

$$1) \text{ N}_2\text{O liberado} = z + a\text{TH} + d\text{H} + e\text{T}$$

$$2) \text{ N}_2\text{O liberado} = z + a\text{TH} + b\text{H}^2 + d\text{H}$$

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.249 <sup>a</sup>	.062	.017	5.206E-02

a. Variables predictoras: (Constante), TH, T, H

VARIABLE DEPENDIENTE: mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>\*h

Tabla C13

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.256 <sup>a</sup>	.066	.021	5.196E-02

a. Variables predictoras: (Constante), TH, H<sub>2</sub>, H

VARIABLE DEPENDIENTE: mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>\*h

Tabla C14

**Tablas C13 y C14: Resultados de las regresiones aplicando los modelos de las experiencias de laboratorio. La variable dependiente es la emisión de N<sub>2</sub>O para el suelo de Navia (tanto en su lugar de origen como trasladado).**

**Nota:** Las abreviaturas T y H corresponden a los parámetros del suelo, **T=temperatura del suelo** y **H=humedad del suelo**. Para los parámetros climáticos no se han utilizado abreviaturas en este caso.

En las tablas C13 y C14, se pueden observar los resultados de dichas regresiones. El coeficiente de determinación mucho menor que 1 ( $r^2 = 0,062$  y  $0,066$ ). Ninguno de los dos modelos se puede considerar significativo.

Se concluye, por tanto que la emisión de óxido nitroso desde el suelo de Navia, ya sea en su lugar de origen o trasladado, alcanza en todos los casos valores muy próximos a cero. Sin embargo las velocidades de desprendimiento son unas veces positivas y otras negativas, así que realmente el suelo estaría actuando unas veces como fuente y otras como sumidero del gas. En cualquier caso, ninguna de los parámetros estudiados como posibles variables predictoras, podría explicar este comportamiento del suelo y los valores velocidades de emisión de N<sub>2</sub>O que se consiguen.



## **VII.- DISCUSIÓN GENERAL.-**

## **VII.- Discusión general.-**

El fin último de este trabajo, era conocer en qué medida afecta el cambio climático global a la mineralización de la materia orgánica del suelo. En concreto, se ha tratado de valorar la influencia que, un incremento de temperatura, tendría sobre el desprendimiento de gases invernadero desde el suelo.

En las experiencias de laboratorio, se ha intentado modelar este desprendimiento, mediante ecuaciones polinómicas de segundo grado que contengan las variables predictorias “temperatura” y “humedad del suelo”. Para ello se han valorado las cantidades de gases emitidas por suelos de distintos tipos, en diferentes condiciones controladas. Las cantidades de dióxido de carbono liberado, han aumentado de manera progresiva con la temperatura, sin embargo, las emisiones importantes de óxido nitroso siempre se han producido en condiciones máximas de humedad. Solamente han aparecido trazas de gas metano en los primeros días de las incubaciones del suelo de prado, cuando éste se encontraba en los niveles de humedad máximos.

Los modelos de elección para explicar la cantidad de dióxido de carbono liberada desde el suelo (acumulada a lo largo de la incubación) contienen las variables predictorias “ $T^2$ ,  $H$  y  $T$ ”, o bien “ $TH$ ,  $H^2$  y  $T$ ”. Sin embargo, los modelos elegidos para el óxido nitroso contienen los términos “ $TH$ ,  $H$  y  $T$ ”, o bien “ $TH$ ,  $H^2$  y  $H$ ”. De los resultados obtenidos, se puede deducir que, principalmente es el  $CO_2$  el gas que mayor dependencia tiene de la temperatura, mientras que las emisiones  $N_2O$  se ven influidas, en mayor medida, por el nivel de humedad. Si bien es verdad, que cuando coinciden niveles máximos de humedad con temperaturas elevadas, las cantidades liberadas de  $N_2O$  son mayores.

A esta misma resolución se llega tras la realización de las experiencias de campo. En ellas se demuestra que la velocidad de emisión de dióxido de carbono depende fundamentalmente de la temperatura; incluso se ha probado la validez del modelo deducido de las experiencias de laboratorio para este gas, donde las variables predictorias son “ $TH$ ,  $H^2$  y  $T$ ”. Para el óxido nitroso, vuelve a quedar patente que el factor determinante es la humedad del suelo; sin embargo, en los estudios de campo no se han producido grandes desprendimientos de este gas y las velocidades medidas son bajas y a veces con signo positivo

y otras negativo, se trata por tanto, de emisión y consumo de pequeñas cantidades de  $N_2O$ , es decir, se estaría produciendo un doble comportamiento del suelo como fuente y sumidero para este gas.

Además, de las experiencias de campo se deduce que los suelos trasladados a zonas más cálidas (Np y Sp: Navia y Sobrado trasladados a Pontearreas) aumentan su dependencia de la temperatura como factor determinante en la emisión de dióxido de carbono. No ocurre lo mismo con el suelo de Navia trasladado a Sobrado (Ns); pero a partir de los datos de temperatura del suelo se demostró que, con este traslado no se habían conseguido unas condiciones propias de una zona más cálida y por tanto, la explicación de su comportamiento diferente se debe a que no fue el incremento de la temperatura del suelo no ha sido significativo.

Según lo expuesto, al ubicarse un suelo en una zona más cálida se darían dos fenómenos que incluso podrían ser sinérgicos: por un lado, el suelo se hace más susceptible para emitir mayores cantidades de  $CO_2$  a la atmósfera, debido a que su temperatura se habría incrementado, y por otro, la velocidad de liberación de este gas se vería influida en mayor medida por la temperatura del suelo.

En cuanto a la presencia de otros gases invernadero, tales como el metano, cabe destacar que solamente en el suelo fertilizado con purín se ha logrado cuantificar. Si bien en los ensayos de laboratorio con suelo de prado, en los niveles de máxima humedad y en los primeros días de incubación, parecía que empezaba a haber trazas de este gas, en el resto de las experiencias, tanto de laboratorio como campo, las concentraciones presentes de  $CH_4$  están por debajo del límite de detección del método analítico ( $LD= 1,4 \mu g/L$ ). De esto se deduce que los parámetros que determinan la emisión de metano desde el suelo, van a ser otros diferentes de la temperatura y humedad, sin embargo, están directamente relacionados con valores de pH y Eh, que corresponden a condiciones extremas de reducción.

Otros compuestos gaseosos diferentes, podrían haberse detectado en cualquier momento del estudio gracias a la utilización del detector de espectrometría de masas. Sin embargo, la ausencia de sus masas características, lleva a deducir que el suelo no los ha liberado, o en caso contrario estarían por debajo de los límites de detección.

Finalmente, se puede concluir que si el cambio climático global lleva consigo un incremento de la temperatura del suelo, será responsable de un aumento de emisión de dióxido de carbono por parte de los microorganismos que residen en él. Incluso, en aquellos lugares donde las condiciones de humedad sean máximas, es decir, donde existan las condiciones óptimas para que se produzca un desprendimiento de  $\text{N}_2\text{O}$ , el aumento en la temperatura del suelo, haría que se incrementasen las cantidades de óxido nitroso liberado.

Esto llevaría a un “circulo vicioso”: la acumulación en la atmósfera de gases invernadero responsables del calentamiento global, sería a su vez determinante para que se produzca un incremento en la emisión de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  desde el suelo. Es decir, los mismos gases estarían contribuyendo a aumentar su presencia en la atmósfera y por tanto, ellos mismos serían responsables de un sobrecalentamiento de la temperatura del Planeta.





## **VIII.- CONCLUSIONES.-**



## **VIII.- Conclusiones.-**

1. Se ha desarrollado un método analítico basado en la cromatografía de gases con espacio de cabeza y detección de masas, que permite determinar los gases invernadero más importantes. Mediante la utilización de una sola columna cromatográfica (GS-Q, d.i.=0,32 mm y longitud=30 m) y un sólo detector (MS), se ha conseguido la separación de los compuestos: CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> y SH<sub>2</sub>.
2. Las condiciones del método cromatográfico: programa de temperaturas del horno (38°C durante 3 min, seguido de 40°C/min hasta 125°C, y finalizar a 125°C durante 1min), temperatura del inyector (70°C), volumen de inyección (0,2 mL) y razón de “split” (1:20), se han decidido en función de conseguir la máxima resolución y sensibilidad, y mínimo tiempo y coste del análisis, debido al gran número de muestras que se iban a estudiar.
3. La utilización del detector de masas permite, por un lado, la identificación de los compuestos mediante la comparación de los espectros de masas obtenidos y los almacenados en las bibliotecas Nist y Wiley, y por otro, la sintonización de masas características con el fin de aumentar la sensibilidad del análisis.
4. Los resultados obtenidos confirman la linealidad del método ( $r^2 \geq 0,9978$  en todos los casos), una eficaz resolución, así como unos valores de precisión (RSD<7%) y límites de detección adecuados al estudio que se pretendía llevar a cabo (LD: CO<sub>2</sub>= 2,4 µg/L; CH<sub>4</sub>= 1,4 µg/L; N<sub>2</sub>O= 0,39 µg/L; SH<sub>2</sub>= 9,3 µg/L).
5. Se ha ideado un sistema de transporte de gases cómodo, rápido y factible para realizar muestreos de campo. Consiste en un prellenado con agua de los viales del espacio de cabeza, seguido de un llenado con gas, mediante una jeringa de 100 ml y una aguja de entrada y otra de salida. Ha sido comprobada su exactitud y reproducibilidad.
6. Se ha diseñado un sistema de incubación en el laboratorio, que permite mantener al suelo en condiciones controladas de temperatura y humedad, y posibilita el estudio cromatográfico de los gases desprendidos, así como el control simultáneo del CO<sub>2</sub> mediante valoración volumétrica por retorno y mediante cromatografía de gases.

7. Mediante las técnicas estadísticas adecuadas, se ha realizado la comparación de los métodos cromatográfico y volumétrico, para la determinación de  $\text{CO}_2$ . Se puede concluir que no existen diferencias significativas entre la utilización de uno y otro método.
8. Se han desarrollado modelos matemáticos, relativamente sencillos, que explican la emisión de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$  en las experiencias de laboratorio, a partir de las variables predictorias: tiempo de incubación, humedad y temperatura. Además, se han elegido modelos polinómicos lineales que expliquen la emisión de estos gases, en función de la temperatura y la humedad para un momento determinado de la incubación. Los modelos de elección han supuesto un compromiso entre las ecuaciones más simplificadas posibles y los coeficientes de determinación más próximos a 1.
9. Se han diseñado experiencias de campo, que han permitido, por un lado la validación del método analítico y del método para el transporte de gases, y por otro, la validación de los modelos matemáticos que habían sido desarrollados tras las experiencias de laboratorio.
10. Se ha demostrado que, mientras la emisión de  $\text{CO}_2$  desde un suelo depende principalmente de la temperatura, el parámetro que afecta de manera fundamental al desprendimiento de  $\text{N}_2\text{O}$  es el porcentaje de humedad del suelo. Sin embargo, la temperatura y humedad no son determinantes para que se produzca emisión de  $\text{CH}_4$ , sino que ésta depende más bien, de que el suelo se encuentre en condiciones extremas de reducción.
11. Es importante destacar que tras las experiencias de campo se ha comprobado que el suelo se puede comportar como sumidero de  $\text{N}_2\text{O}$ . El proceso implicado sería una desnitrificación donde las bacterias adecuadas reducen el óxido nitroso para transformarlo en  $\text{N}_2$ , de manera que se produzca un consumo de este gas, en lugar de una emisión.
12. Los estudios de campo han permitido demostrar además, que el suelo trasladado a las zonas más calidas, experimenta una dependencia mayor de la temperatura, a la hora de liberar dióxido de carbono.

13. Un incremento en la temperatura del suelo supondrá siempre un aumento de emisión de CO<sub>2</sub>, e incluso de N<sub>2</sub>O cuando las condiciones de humedad sean adecuadas. Es decir, el aumento de temperatura favorecerá la acumulación en la atmósfera de gases invernadero procedentes de los microorganismos del suelo.
14. En definitiva, y según el presente estudio, el cambio climático global provocado por el efecto invernadero, puede ser causante de la emisión de nuevos gases con el mismo efecto, y por tanto se estarían ocasionando las condiciones favorables para que la temperatura del Planeta siga aumentando.





## **IX.- BIBLIOGRAFÍA.-**

## **IX.-Bibliografía.-**

**ADACHI, M.; INOUE, K.; YAMAGISHI, Y. y ISHIDA, K. (1997).** Discussion of operating parameters and analysis capability for a Fourier transform infrared emission analyzer. *Soc. Automot. Eng.*, SP-1248, 209-219.

**AFLALAYE, A.; STERNBERG, R.; COSCIA, D.; FAULIN, F. y VIDAL-MADJAR, C. (1997).** Gas chromatography of Titan's atmosphere. VIII. Analysis of permanent gases with carbon molecular sieve packed capillary columns. *J. Chromatogr., A*, 761 (1+2), 195-203.

**ANDERSON, J.P.E. (1982).** Soil respiration. En: *Methods of soil Analysis. Part 2.* (A. L. Page, R. H. Miller y D. R. Keeney, Eds), pp. 831-871. American Society of Agronomy, Madison, WI.

**ANEJA, V.P.; ROBARGE, W.P. y HOLBROOK, B.D. (1995).** Measurements of nitric oxide flux from an upper coastal plain, North Carolina agricultural soil. *Atmospheric Environment*, 29 (21), 3037-3042.

**ARAH, J.R.M.; SMITH, K.A.; CRICHTON, I.J. y LI, H.S. (1991).** Nitrous oxide production and denitrification in Scottish arable soils. *J. Soil Sci.*, 42, 351-367.

**ARCARA, P.G.; GAMBA, C.; BIDINI, D. y MARCHETTI, R. (1999).** The effect of urea and pig slurry fertilization on denitrification, direct nitrous oxide emission, volatile fatty acids, water-soluble carbon and anthrone-reactive carbon in maize-cropped soil from the Po plain (modena, Italy). *Biol Fertil Soils*, 29, 270-276.

**ARMSTRONG, D.W.; LE, K.; REID, G.L., III; LEE, S.C.; BEUTELMANN, K.K.; HORAK, M. y TRAN, P. (1994).** Gas- solid chromatographic analysis of automobile tailpipe emissions as a function of different engine and exhaust system modifications. *J. Chromatogr. A*, 688, 201-209.

**BANDY, A.R.; THORNTON, D.C.; RIDGEWAY, R.G, Jr. y BLOMQUIST, B.W. (1992).** Key Sulfur-Containing Compounds in the Atmosphere and Ocean. *A.C.S. Symp. Ser.*, 502, 409-422.

**BATJES, M.H. y BRIDGES, E. M. (1994).** Potential emissions of radiatively active gases from soil to atmosphere with special reference to methane: Development of a global database (WISE). *J. of Geophysical Research*, 99 (D8), 16479-16489.

**BAUM, M.M. (1997).** UV spectroscopy as a highly versatile tool in gas analysis. *Proc. Annu. ISA Anal. Div. Symp.*, 30, 37-48.

**BÈLINE, F.; MARTINEZ, J.; CHADWICK, D.; GUIZIOU, F. y COSTE, C.-M. (1999).** Factors affecting Nitrogen Transformations and Related Nitrous Oxide Emissions from Aerobically Treated Piggery Slurry. *J. Agric. Engng Res.*, 73, 235-243.

- BERGMAN, I.; SVENSSON, B.H. y NILSSON, M. (1998).** Regulation of methane production in a Swedish acid mire by pH, temperature and substrate. *Soil Biol. Biochem*, 30 (6), 729-741.
- BÉRRUBÉ, P.R.; PARKINSON, P.D. y HALL, E.H. (1998).** Measurement of reduced sulphur compounds contained in aqueous matrices by direct injection into a gas chromatograph with a flame photometric detector. *J. Chromatogr. A*, 830, 485-489.
- BEUCHAMP, E. G.; BERGSTROM, D.W. y BURTON, D. L. (1996).** Denitrification and nitrous oxide production in soil fallowed or under alfalfa or grass. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.*, 27 (1&2), 87-99.
- BLECKA, M.I. y DE MAZIERE, M. (1996).** Detection of nitric acid and nitric oxides in the terrestrial atmosphere in the middle-infrared spectral region.. *Ann. Geophys.*, 14(11), 1103-1110.
- BLOMQUIST, B.W.; BANDY, A.R.; THORNTON, D.C. y CHEN, S. (1993).** Grab Sampling for the Determination of Sulfur Dioxide and Dimethyl Sulfide in Air by Isotope Dilution Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *J. Atmos. Chem.*, 16, 23-30.
- BOECKX, P. y VAN CLEEMPUT, O. (1996).** Flux estimates from soil methanogenesis and methanotrophy: landfills, rice paddies, natural wetlands and aerobic soils. *Environmental Monitoring and Assessment*, 42, 189-207.
- BOGGIE, R. (1977).** Water-table depth and oxygen content of deep pet in relation to root growth of *Pinus contorta*. *Plant and Soil*, 48, 447-454.
- BOWDEN, R.D.; NEWKIRK, K.M. y RULLO, G.M. (1998).** Carbon dioxide and methane fluxes by a forest soil under laboratory-controlled moisture and temperature conditions. *Soil Biol. Biochem.*, 30 (12), 1591-1597.
- BOWMAN, A.F. (1990).** Exchange of greenhouse gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. En: BOWMAN, A.F. (Ed.) *Soils and the greenhouse effect*. Wiley, Chichester, pp 61-127.
- BOWMAN, A.F.; FUNG, I.; MATTHEWS, E. y JOHN, J.(1993).** Global analysis of the potential for N<sub>2</sub>O production in natural soils. *Global Biogeochem. Cycles*, 7, 557-597.
- BRAATZ, B.V. y HOGAN, K.B. (1991).** *Sustainable Rice Productivity and Methane Reduction Research Plan*, Environmental Protection Agency, Office of Air and Radiation, Washington, D.C.
- BRAY, C.J. y SPOONER, E.T.C. (1992).** Fluid inclusion volatile analysis by gas chromatography with photoionization/micro-thermal conductivity detectors: Applications to magmatic MoS<sub>2</sub> and other H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O-CH<sub>4</sub> fluids. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 56, 261-272.

- BREMNER, J.M. (1997).** Sources of nitrous oxide in soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 49, 7-16.
- BRIGNALL, A.P. y ROUNSEVELL, M.D.A. (1995).** Land evaluation modelling to assess the effects of climate change on winter wheat potential in England and Wales. *J. of Agricultural Science*, 124, 159-172.
- BRZEZINSKA, M.; KUZYAKOV, Y.; WLODARCZYK, T.; STAHR, K. y STEPNIEWSKI, W. (1998).** Oxidation of methane and dehydrogenase activity in a Mollic Gleysol. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*; 161, 697-698.
- BULYCHEVA, Z.YU.; RUDENKO, B.A. y PANINA, L.I. (1995).** Gas Chromatographic Determination of Nitrogen Oxide and Dioxide Usin a Photoionization Detector. *J. Anal. Chem.*, 50(1), 45-47.
- CAMACHO ROSALES, J. (1998).** *Estadística con SPSS para Windows*. Ediciones RA-MA.
- CAO, M.K.; DENT, J.B. y HEAL, O. W. (1995).** Modelling methane emissions from rice paddies. *Biogeochem. Cycles*, 9, 183-195.
- CARERI, M.; MORI, G.; MUSCI, M. y VIAROLI, P. (1999).** Evaluation of dynamic headspace and purge-and-trap techniques for the high-resolution gas chromatography analysis of nitrous oxide in seawater. *J. Chromatogr. A*, 848, 327-335.
- CARNOL, M. e INESON, P. (1998).** Environmental factors controlling  $\text{NO}_3^-$  leachin,  $\text{N}_2\text{O}$  emissions and numbers of  $\text{NH}_4^+$  oxidisers in a coniferous forest soil. *Soil Biol. And Biochem.*, 31, 979-990.
- CARRAN, R.A.; THEOBALD, P.M. y EVANS, J.P. (1995).** Emission of Nitrous Oxide from some Grazed Pasture Soils in New Zeland. *J. Soil Res.*, 33, 341-352.
- CARTER, R.A., y SAARIKKO, T.R. (1996).** Estimating regional crop potential in Finland under a changing climate. *Agricultural and Forest Meteorology*, 79, 301-313.
- CASTELLO, G.; D'AMATO, G. y NICCHIA, M. (1990).** Gas chromatographic determination of traces of light hidrocarbons and sulphur compounds in gases at low pressure by simultanesus use of flame-ionization and flame-photometric detectors. *J. Chromatogr.*, 521 (1), 99-107.
- CASTRO, M.S. y GALLOWAY, J.N. (1991).** A comparison of Sulfur-Free and Ambient Air Enclosure Techniques for Measuring the Exchange of Reduced Sulfur Gases Between Soils and the Atmosphere. *J. of Geophys. Research*, 96 (D8), 15427-15437.
- CASTRO, M.S.; STEUDLER, P.A.; MELILLO, J.M.; ABER, J.D. y BOWDEN, R.D. (1995).** Factors controlling atmospheric methane consumption by temperate forest soils. *Global Biogeochemical Cycles*, 9 (1), 1-10.

- CASTRO, M.S.; PETERJOHN, W.T.; MELILLO, J.M.; STEUDLER, P.A.; GHOLZ, H.L. y LEWIS, D. (1994).** Effects of nitrogen fertilization on the fluxes of N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>, and CO<sub>2</sub> from soils in a Florida slash pine plantation. *Can. J. For. Res.*, 24, 9-13.
- CHADWICK, D.R.; VAN DER WEERDEN, T.; MARTINEZ, J. y PAIN, B.F. (1998).** Nitrogen Transformations and Losses following Pig Slurry Applications to a Natural Soil Filter System (Solepur Process) in Brittany, France. *J. agric. Engng.Res.*, 69, 85-93.
- CHANG, C.; CHO, C.M. y JANZEN, H.H. (1998).** Nitrous Oxide Emission From Long-Term Manured Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 62, 677-682.
- CHAPIN, F.S.III, SHAVER, G.R., GIBLIN, A.E., NADELHOFFER, K.J. y LAUNDRE, J.A. (1995).** Responses of arctic tundra to experimental and observed changes in clima. *Ecology*, 76 (3), 694-711.
- CHRISTENSEN, T.R.; JONASSON, S.; MICHELSEN, A.; CALLAGHAN, T.V. y HAVSTRÖM, M. (1998).** Environmental controls on soil respiration in the Eurasian and Greenlandic Artic. *J. of Geophysical Research*, 103 (D22), 29015-29021.
- CHRISTENSEN, T.R.; JONASSON, S.; CALLAGHAN, T.V. y HAVSTRÖM, M. (1999a).** On the potential CO<sub>2</sub> release from tundra soils in a changing climate. *Applied Soil Ecology*, 11, 127-134.
- CHRISTENSEN, T.R.; JONASSON, S.; CALLAGHAN, T.V.; HAVSTRÖM, M. y LIVENS, F.R. (1999b).** Carbon Cycling and Methane Exchange in Eurasian Tundra Ecosystems. *Ambio*, 28 (3), 239-243.
- CHRISTENSEN, T.R.; MICHELSEN, A. y JONASSON, S. (1999c).** Exchange of CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O in a subarctic heath soil: effects of inorganic N and P and amino acid addition. *Soil Biol. and Biochem.*, 31, 637-641.
- COLWELL, R.R. (1996).** Global climate and infectious disease: The cholera paradigm. *Science*, 274, 2025-2031.
- CONEN, F. y SMITH, K.A. (1998).** A re-examination of closed flux chamber methods for the measurement of trace gas emissions from soils to the atmosphere. *European Journal of Soil Science*, 49, 701-707.
- COVERT, J.A.; TENUTA, M. y BEAUCHAMP, E. G. (1995).** Automated analysis of gases stored in vacutainer vials. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 26 (17&18), 2995-3003.
- CRAINE, J.M.; WEDIN, D.A. y CHAPIN, F.S., III (1999).** Predominance of ecophysiological controls on soil CO<sub>2</sub> flux in a Minnesota grassland. *Plant and Soil*, 207, 77-86.



- CROZIER, C.R.; DEVAI, I. y DELAUNE. (1995).** Methane and Reduced Sulfur Gas Production by Fresh and Dried Wetland Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 59, 277-284.
- CRUTZEN, P.J.; ASELMANN, I. y SEILER, W. (1986).** Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna, and humans. *Tellus*, 38B, 271-284.
- CRUTZEN, P.J. (1995).** On the role of CH<sub>4</sub> in atmospheric chemistry: Sources, sinks and possible reductions in anthropogenic sources. *Ambio*, 24, 52-55.
- DASCH, J.M. (1992).** Nitrous oxide emissions from vehicles. *J. Air Waste Manage. Assoc.*, 42, 63-67.
- DAVIDSON, E.A. (1991).** Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. Pp. 219-235. En: Rogers, J.E. & Whitman, W.B. (Eds.) *Microbial production and consumption of greenhouse gases: Methane, nitrogen oxides and halomethanes*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- DAVIDSON, E.A. (1994).** Climate change and soil microbial processes: secondary effects are hypothesized from better know interacting primary effects. En: M.D.A. Rounsevell and P.L. Loveland (eds.) *Soil Responses to Climatic Change*. NATO ASI series, vo. 123, Springer Verlag, Berlin.
- DE GROOT, C.J.; VERMOESEN, A. y VAN CLEEMPOT, O. (1994).** Laboratory study of the emission of NO and N<sub>2</sub>O from some Belgian soils. *Environmental Monitoring and Assessment* 31, 183-189.
- DE-SANTIS, F.; ALLEGRINI, I.; DI-FILIPPO, P. y PASELLA, D. (1996).** Simultaneous determination of nitrogen dioxide and peroxyacetyl nitrate in ambient atmosphere by carbon-coated annular diffusion denuder. *Atmos. Environ.*, 30 (14), 2637-2645.
- DE VISSCHER, A.; THOMAS D.; BOECKX, P. y VAN CLEEMPOT O. (1999).** Methane Oxidation in Simulated Landfill Cover Soil Enviroments. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 1854-1859.
- DELMAS, R. (1994).** An overview of present dnowledge on methane emission from biomass burning. *Fertil. Res.*, 37, 181-190.
- DEMCZAK, M.; IWASYK, Z. y RACHWALSKI, J. (1997).** Determination of methane, nitrogen, and carbon dioxide in natural gas using a gas chromatograph with a thermal conductivity detector. *Nafta—Gaz*, 53 (2), 59-65.
- DENDOOVEN, L.; MURPHY, M.E. y CATT, J.A. (1999).** Dynamics of the denitrification process in soil from the Brimstone Farm experiment, UK. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 727-734.
- DENHA, A. M.; BARTLE, K. D. y PILLING, M. J. (1994).** Simplified Gas-chromatographic Procedures for the Determination of C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> Hydrocarbons in Urban Atmospheres. *Anal. Proc.*, 31 (11), 329-331.

- DENMEAD, O.T. y RAUPACH, M.R. (1993).** Methods for measuring atmospheric gas transport in agricultural and forest systems. En: Harper, L.A.; Mosier, A.R.; Duxburg, J.M. y Rolston, D.E. (Eds.). *Agricultural Ecosystem Effects on Trace Gases and Global Climate Change*, ASA Special Publication n°55, pp.19-43. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Madison, WI.
- DONE, T.J. (1999).** Coral community adaptability to environmental change at the scales of regions, reefs and reef zones. *Amer. Zool.* 39, 66-79.
- DÖRSCH, P.; FLESSA, H. y BEESE, F. (1993).** Jahreszeitliche N<sub>2</sub>O\_Emissionsspitzen nach Bodenfrost. *Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.*, 72, 495-498.
- DUEÑAS, C.; FERNÁNDEZ, M.C.; CARRETERO, J.; LIGER, E. y PÉREZ, M. (1995).** Emissions of CO<sub>2</sub> from some soils. *Chemosphere*, 30 (10), 1875-1889.
- DUNFIELD, P.F.; TOPP, E.; ARCHAMBAULT, C. y KNOWLES, R. (1995).** Effects of nitrogen fertilizers and moisture content on CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O fluxes in a humisol: Measurements in the field and intact soil cores. *Biochem.*, 29, 199-222.
- DUXBURY, J.M.; HARPER, L.A. y MOSIER, A. R. (1993).** Contributions of agroecosystems to global climate change. En: Rolston y col. (Eds.) *Agricultural ecosystem effects on trace gases and global change*, pp. 1-17. ASA Spec. Publ. 55. ASA, CSSA, y SSSA, Madison, WI.
- EISELE, F.L. y BERRESHEIM, H. (1992).** High-Pressure Chemical Ionization Flow Reactor for Real-Time Mass Spectrometric Detection of Sulfur Gases and Unsaturated Hydrocarbons in Air. *Anal. Chem.*, 64, 283-288.
- ENDECOTT, B.R.; SANDERS, D.C. y CHATURVEDI, A.K. (1996).** Simultaneous gas chromatographic determination of four toxic gases generally present in combustion atmospheres. *J. Anal. Toxicol.*, 20 (3), 189-194.
- EPSTEIN, P.R. (1993).** Algal blooms in the spread and persistence of cholera. *BioSystems*, 31, 209-221.
- FANG, C. y MONCRIEFF, J.B. (1996).** An improved dynamic chamber technique for measuring CO<sub>2</sub> efflux from the surface of soil. *Functional Ecology*, 10, 297-305.
- FLESSA, H.; WILD, U.; KLEMISCH, M. y PFADENHAUER, J. (1998).** Nitrous oxide and methane fluxes from organic soils under agriculture. *European Journal of Soil Science*, 49, 327-355.

- FOLLAND, C.K.; KARL, T.R., y VINNIKOV, K.Y.A. (1990).** Observed climate variations and change. En: J.T. Houghton, G.J. Jenkins and J.J. Ephraums (eds.) *Climate change: the IPCC Scientific Assessment*. University Press, Cambridge.
- FRANZLUEBBERS, A.J. y ARSHAD, M.A. (1997).** Particulate Organic Carbon Content and Potential Mineralization as Affected by Tillage and Texture. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 61, 1382-1386.
- FRASER, W.R.; TRIVELPIECE, W.Z.; AINLEY, D.G. y TRIVELPIECE, S. G. (1992).** Increase in Antarctic penguin populations: reduced competition with whales or a loss of sea ice due to environmental warming? *Polar Biology*, 11, 525-531.
- FROST, G.J.; GOSS, L.M. y VAIDA, V. (1996).** Measurements of high-resolution ultraviolet-visible absorption cross sections at stratospheric temperatures. *J. Geophys. Res. (Atmos.)*, 101 (D2) 3869-3877.
- FUJIMORI, M.; ARATA, H.; KAWAMURA, Y.; ITO, Y. y HORITSU, H. (1995).** Determination of residual sulfur dioxide and sorbic acid in imported fruit vinegars. *Shokuhin. Eiseigaku. Zasshi.*, 36 (1), 102-106.
- GARCÍA-JARES, C. y MÉDINA, B. (1995).** Prediction of Some Physico-chemical Parameters in Red Wines From Ultraviolet-Visible Spectra Using a Partial Least-squares Model in Latent Variables. *Analyst*, 120, 1891-1896.
- GHOOS, Y.; CLAUS, D.; GEYPENS, B.; HIELE, M.; MAES, B. y RUTGEERTS, P. (1994).** Screening method for the determination of volatiles in biomedical samples by means of an off-line closed-loop trapping system and high-resolution gas chromatography-ion trap detection. *J. Chromatogr. A*, 665, 333-345.
- GOODROAD, L.L. y KEENEY, D.R. (1984).** Nitrous oxide production in aerobic soils under varying pH, temperature and water content. *Soil Biol. Biochem.*, 16 (1), 39-43.
- GOUDRIAAN, J., y AJTAY, G. L. (1979).** The possible effects of increased CO<sub>2</sub> on photosynthesis. En: E.T. Degeus, S. Kempe y P. Ketner (eds.) *The global cycle*. Scope 13. Wiley, New York.
- GRABHERR, G.; GOTTFRIED, M. y PAULI, H. (1997).** Climate effects on mountain plants. *Nature*, 369, 448.
- GRANLI, T. y BpCKMAN, O.C. (1994).** Nitrous oxide from agriculture. *Norw. J. Agric. Sci.*, 12.
- GRISI, B.; GRACE, C.; BROOKES, C.; BENEDETTI, A. y DELL'ABATE, M.T. (1998).** Temperature effects on organic matter and microbial biomass dynamics in temperate and tropical soils. *Soil Biol. Biochem.*, 30 (10/11), 1309-1315.

**HAHN, G.L. y MORGAN, J.A. (1999).** Potential consequences of climate change on ruminant livestock production. Manuscript prepared for Feb 25, 1999. Workshop on Global Change Impacts in the Great Plains, Omaha, NE.

**HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS. (1980-81).** CRC PRESS 61<sup>st</sup> EDITION.

**HANTSCH, R. E.; KAMP, T. y BEESE, F. (1995).** Increasing the soil temperature to study global warming effects on the soil nitrogen cycle in agroecosystems. *J. of Biogeography*, 22, 375-380.

**HARTE, J.; TORN, M.S.; CHANG, F.; FEIFAREK, B.; KINZIG, A.P.; SHAW, R. y SHEN, K. (1995).** Global warming and soil microclimate: results from a meadow-warming experiment. *Ecological Applications*, 5 (1), 132-150.

**HAUNOLD, W.; OCKELMANN, G. y GEORGII, H.W. (1989).** New gas chromatograph for the measurement of sulphur dioxide and reduced sulphur species in unpolluted areas. *Staub. Reinhalt. Luft*, 49 (6), 191-193.

**HEALY, R.W.; STRIEGL, R.G.; RUSSELL, T.F.; HUTCHINSON, G.L. y LIVINGSTON, G.P. (1996).** Numerical Evaluation of Static-Chamber Measurements of Soil-Atmosphere Gas Exchange: Identification of Physical Processes. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 60, 740-747.

**HENAU, C.; DEVIS, X.; PAGE, S.; JUSTES E.; REAU, R. y GERMON, J. C. (1998).** Nitrous oxide emissions under different soil and land management conditions. *Biol. Fertil. Soils*, 26, 199-207.

**HIDORE, J.J. (1996).** *Global Environmental Change: its nature and impact*. Prentice-Hall, Inc.

**HIYAMA, T.; SUGAYA, S.; YAMAMOTO, J. y KAMIMURA, K. (1994).** Determination of occluded gases in mixed oxide fuel pellets using gas sampling unit and gas chromatography. *J. Nucl. Mater.*, 218, 1-7.

**HOLBROOK, S.J., SCHMITT, R.J. y STEPHENS, J.S. (1997).** Changes in an assemblage of temperate reef fishes associated with a climate shift. *Ecological Applications*, 7 (4), 1299-1210.

**HOREL, J. y GEISLER, J. (1997).** *Global Environmental Change: an Atmospheric Perspective*. John Wiley & Sons, Inc.

**HOUGHTON, J.T.; JENKINS, G.J. y EPHRAUMS, J.J. (Eds.) (1990).** *Climate Change: The IPCC Scientific Assessment*, Cambridge University Press.

**HUTCHINSON, G.L. y MOSIER, A. R. (1981).** Improved Soil Cover Method for Field Measurement of Nitrous Oxide Fluxes. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 45, 311-316.

**HÜTSCH, B.W. (1998).** Sources and Sinks of Methane in German Agroecosystems in Context of the Global Methane Budget. *Agribiol. Res.*, 51 (1), 75-87.

**INESON, P.; COWARD, P.A. y HARTWIG, U.A. (1998).** Soil gas fluxes of N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>, Y CO<sub>2</sub> beneath *Lolium perenne* under elevated: The Swiss free air carbon dioxide enrichment experiment. *Plant and Soil*, 198, 89-95.

**IPCC, 1990, 1992, 1995, 2000.** Reports of *Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge University Press.

**JONES, L.E. y INGRAM, M.B. (1995)** Measuring hazardous air pollutants. *Am. Ceram. Soc. Bull.*, 74 (7), 66-67.

**KAISER, E.A.; KOHRS, K.; KÜCKE, M.; SCHNUG, E.; HEINEMEYER, O. y MUNCH, J.C. (1998).** Nitrous oxide release from arable soil: importance of N-fertilization, crops and temporal variation.. *Soil Biol. Biochem.*, 30 (12), 1553-1563.

**KASIMIR-KLEMEDTSSON, A.; KLEMEDTSSON, L.; BERGLUND, K. MARTIKAINEN, P.; SILVOLA, J.y OENEMA, O. (1997).** Greenhouse gas emissions from farmed organic soils a review. *Soil Use and Management*, 13, 245-250.

**KELTING, D.L.; BURGER, J.A. y EDWARDS, G.S. (1998).** Estimating root respiration, microbial respiration in the rhizosphere, and root-free soil respiration in forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, 30 (7), 961-968.

**KIMBLE, J.M.; LAL, R. y GROSSMAN, R.B. (1998).** Alteration of Soil Properties Caused by Climate Change. *Advances in GeoEcology*, 31, 175-184.

**KLÜBER, H.D. y CONRAD, R. (1998).** Effects of nitrate, nitrite, NO and N<sub>2</sub>O on methanogenesis and other redox processes in anoxic rice field soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 25, 301-318.

**KOMAZAKI, Y.; HAMADA, Y.; HASHIMOTO, S.; FUJITA, T. y TANAKA, S. (1999).** Development of an automated, simultaneous and continuous measurement system by using a diffusion scrubber coupled to ion chromatography for monitoring trace acidic and basic gases in the atmosphere. *Analyst*, 124, 1151-1157.

**KROCHMAL, D. (1995).** Spectrophotometric method for determination of nitrogen dioxide in workplace air using passive sampling. *Wairbrane Pr. Zakresu inz. Chem. Procesowej*, Volume 2, 157-65.

**KRUMBEIN, W.E. (1995).** A Neglected Carbon Sink? Biodegradation of Rocks. En: D. Allsopp, R.R. Colwell y D.L. Hawksworth (eds.) *Microbial Diversity and Ecosystem Function*. CAB International, Wallingford.

- KULAGINA, L.A.; PRUSAKOVA, I.I.; NEKORKINA, T.A. y KARABANOV, N.T. (1998).** Modified Activated Carbon for the Determination of C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> Hydrocarbons by Gas Chromatography. *J. Anal. Chem.*, 53 (9), 829-831.
- KUMAGAI, S. y KODA, S. (1999).** Passive Sampling and Head Space Analysis for Quantitative Determination of Nitrous Oxide Exposure. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 60 (4), 458-462.
- LAGESSON-ANDRASKO, L.; LAGESSON, V. y ANDRASKO, J. (1998).** The Use of Gas-Phase UV Spectra in the 168-330-nm Wavelength Region for Analytical Purposes. 1. Qualitative Measurements. *Anal. Chem.*, 70, 819-826.
- LANGEVELD, G.A. y HOFMAN, J.E. (1994).** Nitrous oxide production and consumption in peat soils. *J. Van Ham et al. (eds), Non-CO<sub>2</sub> Greenhouse Gases*, 433-438.
- LAUF, J. y GEBAUER, G. (1998).** On-Line Analysis of Stable Isotopes of Nitrogen in NH<sub>3</sub>, NO, and NO<sub>2</sub> at Natural Abundance Levels. *Anal. Chem.*, 70, 2750-2756.
- LEFFELAAR, P.A. (1986).** Dynamics of Partial Anaerobiosis, Denitrification, and water in a Soil Aggregate: Experiment and Simulation. *Soil Sci.*, 146, 335-349.
- LEIRÓS, M.C.; TRASAR-CEPEDA, C.; SEOANE, S. y GIL-SOTRES, F. (1999).** Dependence of mineralization of soil organic matter on temperature and moisture. *Soil Biol. and Biochem.*, 31, 327-355.
- LIN, C. (1996).** Simultaneous determination of CO and CO<sub>2</sub> in air by gas chromatography. *Lihua Jianyan, Huaxue Fence*, 32 (6), 358-359, 361.
- LOBERT, J.M., SCHARFFE, D.H.; HAO, W.M. y CRUTZEN, P.J. (1990).** Importance of biomass burning in the atmospheric budgets of nitrogen-containing gases. *Nature*, 346, 552-554.
- LOEVINSOHN, M.E. (1994).** Climatic warming and increased malaria incidence in Rwanda. *The Lancet*, 343, 714-718.
- LOAICIGA, L.C., MAIDMENT, D.R. y VALDES, J.B. (1998).** *Climate change impacts on water resources of the Edwards Balcones Fault Zone aquifer, Texas*. American Society of Civil Engineers, Reston VA, USA. ASCE/USEPA Cooperative Agreement CR824540-01-0. 72pp+figs.
- LOFTFIELD, N.; FLESSA, H.; AUGUSTIN, J. y BEESE, F. (1997).** Automated Gas Chromatographic System for Rapid Analysis of the Atmospheric Trace Gases Methane, Carbon Dioxide, and Nitrous Oxide. *J. Environ. Qual.*, 26, 560-564.



**LOUGH, D.R. (1999)** Sea Surface Temperatures on the Great Barrier Reef: A Contribution to the Study of Coral Bleaching. *Report to the Great Barrier Reef Marine Park Authority*. Research Publication no. 57. Townsville, Queensland. 31pp.

**MAGNUSSON, T. (1989)**. A method for equilibration chamber sampling and gas chromatographic analysis of the soil atmosphere. *Plant and Soil*, 120, 39-47.

**MALBORG, P. (1982)**. The sealed glass ampoule sampling method for gas chromatographic soil air investigations. *The Swedish University of Agricultural Sciences, Energy Forestry Project (ESO)*, technical report nº 20.

**MANABE, S. y STOUFFER, R.J. (1993)**. Century-scale effects of increased atmospheric CO<sub>2</sub> on the ocean-atmosphere system. *Nature*, 364, 215-218.

**MARCHAND, M.; TERMONIA, M.; CAPRAIS, J.C. y WYBAUW, M. (1994)**. Purge and trap GC-MS analysis of volatile organic compounds from the guaymas Basin hydrothermal site (gulf of California). *Analisis*, 22, 326-331.

**MARTIKAINEN, P.J. y DE BOER, W. (1993)**. Nitrous oxide production and nitrification in acidic soil from Dutch coniferous forest. *Soil Biol. Biochem.*, 25: 343-347.

**MATTHEWS, E.; KROPFF, M.J. y BACHELET, D. (1997)** Simulating the impact of climate change on rice production in Asia and evaluatin options for adaptation. *Agricultural Systems*, 54, 399-425.

**McKENZIE, C.; SCHIFF, S.; ARAVENA, R.; KELLY, C. y LOUIS, V. ST. (1998)**. Effect of temperature on production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> from peat in a natural and flooded boreal forest wetland. *Climatic Change*, 40, 247-266.

**MELLQVIST, J. y ROSEN, A. (1996)**. DOAS for flue gas monitoring-II. Desviations from the Beer-Lambert law for the U.V./visible absorption spectra of NO, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> and NH<sub>3</sub>. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.*, 56(2), 209-224.

**MERCK INDEX**. The Merck Index en CD-ROM. Versión 12:1.

**MESTRES, M.; BUSTO, O. y GUASCH, J. (1997)**. Chromatographic analysis of volatile sulfur compounds in wines using the static headspace technique with flame photometric detection. *J. Chromatogr., A*, 773 (1+2), 261-269.

**MESTRES, M.; MARTÍ, M.P.; BUSTO, O. y GUASCH, J. (1999)**. Simultaneous analysis of thiols, sulphides and disulphides in wine aroma by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography. *J. Chromatogr. A*, 849, 293-297.

- MIKKELÄ, C.; SUNDH, I.; SVENSSON, B.H. y NILSSON, M. (1995).** Diurnal variation in methane emission in relation to the water table, soil temperature, climate and vegetation cover in a Swedish acid mire. *Biogeochem.*, 28, 93-114.
- MINAMI, K. (1997).** Atmospheric methane and nitrous oxide: sources, sinks and strategies for reducing agricultural emissions. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 49, 203-211.
- MINAMI, K. y TAKATA, K. (1997).** Atmospheric methane: sources, sinks and strategies for reducing agricultural emissions. *Wat. Sci. Tech.*, 36 (6-7), 509-516.
- MINENY, , R.B., KEELING, C.D., TUCKER, C.J. y NEMANI, R.R. (1997).** Increased plant growth in the northern high latitudes from 1981-1991. *Nature*, 386, 698-702.
- MOGGE, B.; KAISER, E.A. y MUNCH, J.C. (1998).** Nitrous oxide emissions and denitrification N-losses from forest soils in the Bornhöved Lake region (Northern Germany). *Soil Biol. Biochem.*, 30 (6), 703-710.
- MOGGE, B.; KAISER, E.A. y MUNCH, J.C. (1999).** Nitrous oxide emissions and denitrification N-losses from agricultural soils in the Bornhöved Lake region: influence of organic fertilizers and land-use. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 1245-1252.
- MOORE, T.R. y ROULET, M.T. (1991).** A comparison of dynamic and static chambers for methane emission measurements. *Atmosphere-Ocean*, 29, 102-109.
- MORENO, L.R. y DE LA VEGA, P.I. (1989).** Headspace gas.chromatographic analysis of sulphur dioxide in beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 47 (1), 6-9.
- MOSIER, A.R.; SCHIMEL, D.S.; VALENTINE, D.; BRONSON, K. y PARTON, W. (1991).** Methane and nitrous oxide fluxes in native, fertilized and native grasslands. *Nature*, 350, 330-332.
- MOSIER, A.R.; KLEMEDTSSON, L.K.; SOMMERFELD, R.A.; y MUSSELMAN, R.C. (1993).** Methane and nitrous oxide flux in Wyoming subalpine meadow. *Global Biogeochem. Cycles*, 7, 771-784.
- MOSIER, A.R.; PARTON, W.J.; VALENTINE, D.W.; OJIMA, D.S.; SHIMEL, D.S. y HEINEMEYER, O. (1997).** CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O fluxes in the Colorado shortgrass steppe 2. Long-term impact of land use change. *Global Biogeochem. Cycles*, 11 (1), 29-42.
- MUÑOZ TABOADELA, M. (1995).** Suelos de Galicia: *Análisis y necesidades de fertilizantes con especial referencia al fósforo*. Monografías ecológicas y agrarias nº1. Madrid.



NAVALE, V.; HARPOLD, D. y VERTES, A. (1998). Development and Characterization of Gas Chromatographic Columns for the Analysis of Prebiological Molecules in Titan's Atmosphere. *Anal. Chem.*, 70, 689-697.

NEW JERSEY DEPARTMENT OF HEALTH AND SENIOR SERVICES. Occupational Disease and Injury Services. *Hazardous Substance Fact Sheet*.

NIKLAUS, P.A. y KÖRNER, C. (1996). Responses of soil microbiota of a late successional alpine grassland to long term CO<sub>2</sub> enrichment. *Plant and Soil*, 184, 219-229.

NIKLAUS, P.A. (1998). Effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on soil microbiota in calcareous grassland. *Global Change Biology*, 4, 451-458.

NYKÄNEN, H.; ALM, J.; LANG, K; SILVOLA, J. y MARTIKAINEN, P.J. (1995). Emissions of CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O and CO<sub>2</sub> from a virgin fen and a fen drained for grassland in Finland. *J. of Biogeography*, 22, 351-357.

PANDIT, V.I. y AGGARWAL, A. L. (1992). Field studies for comparison of two nitrogen dioxide monitoring techniques. *Indian J. Environ Prot.*, 12 (9), 667-670.

PANDURANGAPPA, M. y BALASUBRAMANIAN, N. (1996). Extractive spectrophotometric determination of trace amounts of nitrogen dioxide, nitrite and nitrate. *Mickrochim. Acta*, 124, 137-146.

PARMESAN C.; RYRHOLM, N.; STEFANESCU, C.; HILL, J.K.; THOMAS, C.D.; DESCIMON, H.; HUNTLEY, B.; KAILA, L.; KULLBERG J.; TAMMARU, T.; TENNENT, W.J.; THOMAS, J. A. y WARREN, M. (1999). Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*, 399, 579-583.

PARRY, M.; ROSENZWEIG, C.; IGLESIAS, A.; FISCHER, G. y LIVERMORE, M. (1999). Climate Change and World Food Security: A New Assessment. *Global Environmental Change*, 9, S51-S67.

PATRICK, W.H.; GAMBRELL, R.P. y FAULKNER, S.P. (1996). *Methods of Soil Analysis*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Chapter 42, Book Series nº5. Seguerd, Madison WI53711.

PAUL, E.A.; HARRIS, D.; COLLINS, H.P.; SCHULTHESS, U. y ROBERTSON, G.P. (1999). Evolution of CO<sub>2</sub> and carbon dynamics in biologically managed, row-crop agroecosystems. *Applied Soil Ecology*, 11, 53-65.

PETERSEN, S.O. (1999). Nitrous Oxide Emissions from Manure and Inorganic Fertilizers Applied to Spring Barley. *J. Environ. Qual.*, 28, 1610-1618.

- POLI, D.; BERGAMASCHI, E.; MANINI, P.; ANDREOLI, R. y MUTTI, A. (1999).** Solid-phase microextraction gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of inhalation anesthetics in urine. *J. Chromatogr. B*, 732, 115-125.
- POUNDS, J.A., FOGDEN, M.P.L., SAVAGE, J.M. y GORMAN, G.C. (1997).** Test of null models for amphibian declines on a tropical mountain. *Conservation Biology*, 11, 1307-1322.
- PREGITZER, K.S. (1993).** Impact of climate change on soil processes and soil biological activity. *BCPC Monograph n° 56: Global Climatic Change*.
- RAUHUT, D.; KÜRBEL, H.; MACNAMARA, K. y GROSSMANN, M. (1998).** Headspace GC-SCD monitoring of low volatile sulfur compounds during fermentation and in wine. *Analisis*, 26, 142-145.
- REID, G. L., III; WALL, W.T. y ARMSTRONG, D.W. (1993).** Cyclodextrin stationary phases for the gas-solid chromatographic separation of inorganic gases. *J. Chromatogr.*, 633, 143-149.
- REIS ALVES LA; GROB, R; MIN, M y DESMOLIN, M. (1994).** Perfectionnements dans l'analyse du gaz naturel. *Analisis*, 22, 490-494.
- RIGNOT, E.J. (1998).** Fast recession of a west Antarctic glacier. *Science*, 281, 549-551.
- ROCHETTE, P.; ELLERT, B.; GREGORICH, E.G.; DESJARDINS, R.L.; PATTEY, E. JESSARD, R. y JOHNSON, B. G. (1997).** Description of a dynamic closed chamber for measuring soil respiration and its comparison with other techniques. *Can. J. Soil. Sci.*, 77, 195-203.
- ROCHETTE, P. y ANGERS, D.A. (1999).** Soil Surface Carbon Dioxide Fluxes Induced by Spring, Summer, and Fall Moldboard Plowing in a Sandy Loam. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63, 621-628.
- RODRÍGUEZ-TRELLES, F. y RODRÍGUEZ, M.A. (1998).** Rapid micro-evolution and loss of chromosomal diversity in *Drosophila* in response to climate warming. *Evol. Cevol.* 12, 829-838.
- ROLSTON, D.E.; FRIED, M y GOLDHAMER, D.A. (1976).** Denitrification measured directly from nitrogen and nitrous oxide gas fluxes. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 40, 259-266.
- ROUSE, R.W.; HOLLAND, S. y MOORE, T.R. (1995).** Variability in Methane Emissions from Wetlands at Northern Treeline near Churchill, Manitoba, Canada. *Artic and Alpine Research*, 27 (2), 146-156.
- ROWELL, M.J. (1995).** Colorimetric method for CO<sub>2</sub> measurement in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 27 (3), 373-375.

- RUBEY, W.A., STRIEBICH, R.C.; TISSANDIER, M.D.; TIREY, D.A. y ANDERSON, S.D. (1995).** Gas Chromatographic Measurement of Trace Oxygen and Other Dissolved Gases in Thermally Stressed Jet Fuel. *J.Chromatogr. Sci.*, 33(8), 433-437.
- RUDAZ, A. O.; WÄLTI, E. KYBURZ, G.; LEHMANN, P. y FUHRER, J. (1999).** Temporal variation in N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> fluxes from permanent pasture in Switzerland in relation to management, soil water content and soil temperature. *Agric., Ecosys. and Environ.*, 73, 83-91.
- RUSTAD, L.E. y FERNÁNDEZ, I.J. (1998).** Experimental soil warming effects on CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> flux from a low elevation spruce-fir forest soil in Maine, USA. *Global Change Biology*, 4, 597-605.
- SAGARIN, R.D., BARRY, J.P., GILMAN, S.E. y BAXTER, C.H. (1999).** Climate-related change in an intertidal community over short and long time scales. *Ecological Monographs*, 69 (4), 465-490.
- SALVI, S. y WILLIAMS-JONES, A.E. (1997).** Fluid-inclusion volatile analysis by gas chromatography application of a wide-bore porous-polymer capillary column to the separation of organic and inorganic compounds. *Can. Mineral.*, 35 (6), 1391-1414.
- SCHARPENSEEL, H.-W. y PFEIFFER, E.M. (1998).** Impacts of Possible Climate Change Upon Soils; Some Regional Consequences. *Advances in GeoEcology*, 31, 193-208.
- SCHIEL, D. y RÖHKER, K. (1997).** Highly accurate gas chromatographic analysis of reference gases for use in vehicle emission measurements. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 357, 619-623.
- SCHINDLER, D.W., BEATY, K.G., FEE, E.J., CRUIKSHANK, D.R., DEDBRUYN, E.R., FINDLAY, D.L., LINSEY, G.A., SHEARER, J.A. STANTON, M.P. y TURNER M.A. (1990).** Effects of Climatic Warming on Lades of the Central Boreal Forest. *Science*, 258, 967-970.
- SEGRS, R. (1998).** Methane production and methane consumption: a review of processes underlying wetland methane fluxes. *Biogeochem.*, 41, 23-51.
- SHANTHI, K. y BALASUBRAMANIAN, N. (1994).** Dibenzoyl methane-a new coupling agent for nitrite determination. *J. AOAC. Int.*, 77 (6), 1639-1646.
- SHARP, B. (1991).** Nitrous oxide emissions from soils. Expected modifications as a consequence of current trends in land use. *CEC Report EUR 13473 EN*, Brussels.
- SHERMAN, S.J. y CULLEN, B.F. (1988).** Nitrous oxide and the greenhouse effect. *Anesthesiol.*, 68, 816-817.

- SHOOTER, D.; MORA, S.J.; GROUT, A.; WYLIE, D.J. y HE ZHI-YUN. (1992).** The chromatographic analysis of reduced sulfur gases in antartic waters following pre.concentration onto tenax. *Intern. J. Environ Anal. Chem.*, 47, 239-249.
- SICH, I. y RUSSOW, R. (1999).**  $^{15}\text{N}$  Analysis of Nitric Oxide and Nitrous Oxide by Cryotrap Enrichment Using a Gas Chromatograph Quadrupole Mass Spectrometer and its Application to  $^{15}\text{N}$ -Tracer Investigations of  $\text{NO}/\text{N}_2\text{O}$  Formation in Soil. *Rapik. Commun. Mass Spectrom.*, 13, 1325-1328.
- SITLAULA, B.K.; LUO, J. y BAKKEN, L.R. (1992).** Rapid Analysis of Climate Gases by Wide Bore Capillary Gas Chromatography. *J. of Environmental Quality*, 21 (3), 493-496.
- SITLAULA, B.K. y BAKKEN, L.R. (1993).** Nitrous oxide release from spruce forest soil: relationships with nitrification, methane uptake, temperature, moisture and fertilization. *Soil Biol. Biochem.*, 25 (10), 1415-1421.
- SITLAULA, B.K.; WARNER, W.S.; BAKKEN, L.R.; HARGREAVES, K.; KLEMEDTSSON, L.; SITLAULA, J.I.B.; CHRISTENSEN, S.; PRIEMÉ, A. y BALL, B.C. (1995).** An interdisciplinary approach for studying greenhouse gases at the landscape scale. *NJAS*, 9, (3-4), 189-209.
- SOUZA, T.C.L. (1993).** GC analysis of 1-20 ppb sulphur gases without preconcentration. *Pulp & Paper Canada.*, 94:4, 55-59.
- SMITH, D.L.Jr. y KAUFMAN, R.S. (1999).** Long-term discrepancy between food supply and demand in the deep Eastern North Pacific. *Science*, 284, 1174-1177.
- STANDARDS AUSTRALIA. (1990).** Methods for sampling and analysis of ambient air. Method 2.2 Preparation of reference test atmospheres-compressed gas method. *Australian Standard*, AS 3580.2.2-1990, Pp.4
- STAN'KOV, I.N.; TARASOV, S.N. y POLYAKOV, V.S. (1999).** Gas-Chromatographic Determination of Sulfur Dioxide, Hydrogen Chloride, and Chlorine in Thieryl chloride. *J. Anal. Chem.*, 54 (5), 473-475.
- STOTZKY, G. (1965).** Microbial respiration. En: *Methods of soil Analysis. Part 2.* (C. A. Black, D. D. Evans, L. E. Ensminger, J. L. White and F. E. Clark, Eds), pp. 1550-1572. American Society of Agronomy, Madison, WI.
- STUMPF, A.; TOLVAJ, K. y JUHÁSZ, M. (1998).** Detailed analysis of sulfur compounds in gasoline range petroleum products with high-resolution gas chromatography-atomic emission detection using group-selective chemical treatment. *J. Chromatogr. A*, 819, 67-74.
- SUNDH, I.; MIKKELÄ, C.; NILSSON, M. y SVENSSON, B.H. (1995).** Potential aerobic methane oxidation in a sphagnum-dominated peatland-controlling factors and relation to methane emission. *Soil Biol. Biochem.*, 27 (6), 829-837.

- SYAMSUL ARIF, M. A.; HOUWEN, F. y VERSTRAETE, W. (1996).** Agricultural factors affecting methane oxidation in arable soil. *Biol. Fertil Soils*, 21, 95-102.
- TALASEK, R.T. y DAUGHERTY, K.E. (1992).** The Analysis of Nitrogen and Sulfur Oxides by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy. *J. Chromatogr. Sci.*, 30, 131-135.
- TALBOT, R.; SCHEUER, E.M.; LEFER, B.L. y LUKE, W.T. (1997).** Measurements of sulfur dioxide during GASIE with the mist chamber technique. *J. Geophys. Res. (Atmos.)*, 102 (D13), 16273-16278.
- TANG, H. ; HEATON, P. y HADLEY, M. (1996).** A multipurpose sampling loop for analysis of nanogram to milligram per cubic meter levels of sulfur compounds in the atmosphere, natural gas and gaseous fuels. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 64 (1), 59-69.
- TANOURA, M.; MUTA, K.; FUJIMURA, K. y TOKUDA, K. (1997).** Detection of nitrogen oxides by high-resolution near-infrared absorption spectroscopy. *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 3108, 64-71.
- TANS, P.P. y BAKWIN, P.S. (1995).** Climate Change and Carbon Dioxide Forever. *Ambio*, 24 (6), 376-378.
- THOMAS, C.D. y LENNON, J.J. (1999).** Birds extend their ranges northwards. *Nature*, 399:213.
- TORN, M.S. y HARTE, J. (1996).** Methane consumption by montane soils: implications for positive and negative feedback with climatic change. *Biogeochem.*, 32, 53-67.
- TUREKIAN, K. K. (1996).** *Global Environmental Change: Past, Present and Future*. Prentice Hall, Inc.
- UNEP (1993).** *United Nations Environment Program, Environmental Data Report*, 1993-94. Blackwell Publishers, Oxford.
- UPSTALL-GODDARD, R.C.; REES, A.P. y OWENS, N.J.P. (1996).** Simultaneous high-precision measurements of methane and nitrous oxide in water and seawater by single phase equilibration gas chromatography. *Deep-Sea Res.*, Part I, 43 (10), 1669-1682.
- VALCARCEL CASES, M.V. y GÓMEZ HENS, A. (1994).** *Técnicas analíticas de separación*. Editorial Reverté. Barcelona.
- VAN CLEEMPOT, O. (1998).** Subsoils: chemo- and biological denitrification, N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> emissions. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 52, 187-194.
- VAN DAM, J. y DAENENS, P. (1994).** Microanalysis of Carbon Monoxide in Blood by Head-Space Capillary Gas Chromatography. *J. Forensic Sci.*, 39 (2), 473-478.

**VAN DEN POL-VAN DASSELAAR, A.; CORRÉ, W.J.; PRIEMÉ, A.; KLEMEDTSSON, Å.K.; WESLIEN, P.; STEIN, A.; KLEMEDTSSON, L. y OENEMA, O. (1998).** Spatial Variability of Methane, Nitrous Oxide, and Carbon Dioxide Emissions from Drained Grasslands. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 62, 810-817.

**VAN DEN POL-VAN DASSELAAR, A.; VAN BEUSICHEM, M.L. y OENEMA, O. (1999).** Effects of nitrogen input and grazing on methane fluxes of extensively and intensively managed grasslands in the Netherlands. *Biol Fertil Soils*, 29, 24-30.

**VÁZQUEZ ABELEDO, M. (1998)** *La historia del sol y el cambio climático*. McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U.

**VELDKAMP, E.; DAVIDSON, E.; ERICKSON, H.; KELLER, M. y WEITZ, A. (1999).** Soil nitrogen cycling and nitrogen oxide emissions along a pasture chronosequence in the humid tropics of Costa Rica. *Soil Biol. and Biochem.*, 31, 387-394.

**VELTHOF, G.L. y OENEMA, O. (1995).** Nitrous oxide fluxes from grassland in the Netherlands: I. Statistical analysis of flux-chamber measurements. *European Journal of Soil Science*, 46, 533-540.

**VISSER, M.E.; VAN NOORDWIJK, A.J., TINBERGEN, J.M. y LESSELLS, C.M. (1998)** Warmer spring lead to mistimed reproduction in great tits (*Parus major*). *Proc. R. Soc. Lond.*, 265, 1867-1870.

**WAGAI, R.; BRYE, K.R.; GOWER, S.T.; NORMAN, J.M. y BUNDY, L.G. (1998).** Land use and environmental factors influencing soil surface CO<sub>2</sub> flux and microbial biomass in natural and managed ecosystems in Southern Wisconsin. *Soil Biol. Biochem.*, 30 (12), 1501-1509.

**WAHLEN, M. (1993).** The global methane cycle. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.*, 21, 407-426.

**WALLACE, J.M. y HOBBS, P.V., (1977).** *Atmospheric Science*. Academic Press.

**WANG, H.; ZHANG, Q.; DALLA LANA, I.G. y CHUANG, K.T. (1998).** Analysis of Both Sulfur and Non-Sulfur Compounds Using a Single Gas Chromatograph with Parallel Sulfur Chemiluminescence and Thermal Conductivity Detectors. *J. Chromatogr. Sci.*, 36, 605-611.

**WANG, F.L.; BETTANY, J.R. y HUANG, P.M. (1999).** Methane uptake by cultivated Canadian prairie and forest soils. *Geoderma*, 88, 39-53.

**WARK, K. y WARNER, C.F. (1994).** Contaminación del Aire. Origen y Control. *Editorial Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores*.



- WATANABE, A. y KIMURA, M. (1994).** Methane production and Its Fate in Paddy Fields. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 41 (2), 225-233.
- WATANABE, A.; KAJIWARA, M.; TASHIRO, T. y KIMURA, M. (1995).** Influence of rice cultivar on methane emission from paddy fields. *Plant and Soil*, 176, 51-56.
- WATSON, A.; STEPHEN, K.D.; NEDWELL, D.B. y ARAH, J.R.M. (1996).** Oxidation of methane in peat: kinetics of CH<sub>4</sub> and O<sub>2</sub> removal and the role of plant roots. *Soil Biol. Biochem.*, 29, 1165-1172.
- WEENINK, J.B. (1993).** Environmental policy and the greenhouse effect. *Vegetatio*, 104/105, 357-366.
- WIGLEY, T.M.L. y RAPER, S.C.B. (1995)** An heuristic model for sea level rise due to the melting of small glaciers. *Geophysical Research Letters*, 22, 2749-2752.
- WIIN-NIELSEN, A. (1999).** The Greenhouse Effect, Yes or No? A Scientific Evaluation. *Water Resources Management*, 13, 59-72.
- XU, C.; SHAFFER, M.J. y AL-KAISI, M. (1998).** Simulating the Impact of Management Practices on Nitrous Oxide Emissions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 62, 736-742.
- YAMULKI, S.; JARVIS, S.C. y OWEN, P. (1998).** Nitrous oxide emissions from excreta applied in a simulated grazing pattern. *Soil Biol. Biochem.*, 30 (4), 491-500.
- YAVITT, J.B.; FAHEY, T.J. y SIMMONS, J.A. (1995).** Methane and Carbon Dioxide Dynamics in a Northern Hardwood Ecosystem. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 59, 796-804.
- YOSHINARI, T. y KNOWLES, R. (1976).** Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 9, 177-183.
- YUN, H.; MARKIDES, K.E. y LEE M.L. (1995a).** Preparation of Silica Porous-layer Open-tubular Columns Using Fused Silica Capillaries. *J. Microcolumn. Sep.*, 7(3), 153-158.
- YUNG, H.; LEE, M.L.; y MARKIDES, K.E. (1995b).** Charcoal porous layer open tubular column GC for permanent gas analysis. *J. Microcolumn Sep.*, 7(3), 207-212.
- ZHEIVOT, VI.; ZARODYSHEVA, MV y ZIBAREV, PV. (1996).** Determination of sulfur-containing compounds in industrial wastes and products of their catalytic purification by gas chromatography. *Zn. Anal. Khim.*, 51 (7), 773-776.

## CONEXIONES WWW (WORLD WIDE WEB):

Aviso: Estas direcciones pueden cambiar de ubicación, como es normal en muchas conexiones de la World Wide Web (Internet). A todas las direcciones hay que anteceder la conocida <http://>

[gcmd.nasa.gov/](http://gcmd.nasa.gov/). Global Change Master Directory.

[icmuv.uv.es/webfernand/divulgacion/inverna.html](http://icmuv.uv.es/webfernand/divulgacion/inverna.html). El Sol, la vida y el efecto invernadero. Coret y Sapiña (1998).

[web.mit.edu/afs/athena.mit.edu/org/cgsc/www](http://web.mit.edu/afs/athena.mit.edu/org/cgsc/www). Center for Global Change Science (Massachusetts Institute of Technology).

[www.conam.gob.pe/](http://www.conam.gob.pe/). Página web del Cambio Climático.

[www.conicyt.cl/explora/noticias/](http://www.conicyt.cl/explora/noticias/). El Efecto Invernadero.

[www.devon.esc.edu.ar/tp/medio\\_ambiente7.html](http://www.devon.esc.edu.ar/tp/medio_ambiente7.html). El efecto invernadero.

[www.fortunecity.com/victorian/bar...ctoInvernaderoYEnergíasAlternativas.html](http://www.fortunecity.com/victorian/bar...ctoInvernaderoYEnergíasAlternativas.html). Efecto de invernadero y Formas Alternativas de Energía.

[www.gcric.org/ipcc/qa/cover.html](http://www.gcric.org/ipcc/qa/cover.html). Common Questions about Climate Change. (United Nations Environment Programme & World Meteorological Organization).

[www.geocities.com/RainForest/Vines/4716](http://www.geocities.com/RainForest/Vines/4716). Biogeoquímica y cambio climático.

[www.inaoep.mx/~alberto/sintesis/venus3.html](http://www.inaoep.mx/~alberto/sintesis/venus3.html). Venus, El Planeta del Efecto Invernadero. Carrasco y Carramiñana (1996).

[www.inm.es](http://www.inm.es). "Página web del Instituto Nacional de Meteorología.

[www.met.utah.edu/climate.html](http://www.met.utah.edu/climate.html). Global Environmental Change: An Atmospheric Perspective.

[www.sicoar.com.uy/cipfe1/gudynas2.html](http://www.sicoar.com.uy/cipfe1/gudynas2.html). Efecto invernadero en América Latina.

[www.unfccc.de/](http://www.unfccc.de/). United Nations Convention of Climate Change.

[www.wmo.ch/](http://www.wmo.ch/). World Meteorological Organization.